# LAMBDA BIO/BIO+

## Manuale d'uso

**Cronologia delle versioni**

| Numero parte | Versione | Data di pubblicazione |
|---|---|---|
| L6050016 | D | Gennaio 2014 |

Eventuali commenti relativi alla documentazione per questo prodotto devono essere indirizzati a:

User Assistance
PerkinElmer Ltd
Chalfont Road
Seer Green
Beaconsfield
BUCKS
HP9 2FX
Regno Unito

O via e-mail all'indirizzo: info@perkinelmer.com

**Avvisi**
Le informazioni contenute nel presente documento sono soggette a modifiche senza obbligo di preavviso.
**Salvo altrimenti specificato nei presenti termini e condizioni di vendita, PerkinElmer non prevede garanzie di alcun tipo in relazione al presente documento, incluse tra le altre garanzie tacite di commerciabilità e idoneità per l'uso e garanzie per scopi particolari.**
PerkinElmer non si riterrà responsabile di errori contenuti nel presente documento o danni indiretti o conseguenti associati alla fornitura, al funzionamento o all'uso del presente materiale.

# *Sommario*

# *Introduzione*

# *Informazioni su questo manuale*

Il presente manuale d'uso contiene le procedure di installazione e utilizzo dello spettrometro Lambda Bio/Bio+ UV/Vis.

Il manuale contiene le sezioni riportate di seguito.

- Introduzione
- Informazioni sulla sicurezza
- Installazione dello strumento
- Uso dello strumento
- Metodi strumentali
- Accessori
- Manutenzione
- Appendici

# *Convenzioni utilizzate in questo manuale*

Il testo normale viene utilizzato per fornire informazioni e istruzioni.

Il testo in **grassetto** si riferisce al testo che viene visualizzato sullo schermo.

Il testo in MAIUSCOLO, ad esempio INVIO o ALT, si riferisce ai tasti della tastiera del PC. Il simbolo "+" viene utilizzato per indicare che è necessario premere due tasti contemporaneamente, ad esempio ALT+F.

Tutti i numeri con otto cifre sono part number di PerkinElmer, salvo altrimenti specificato.

Se non specificato diversamente nel presente manuale, "strumento" si riferisce allo strumento Lambda Bio o Lambda Bio+.

## *Note, messaggi di attenzione e avvertenze*

Vengono anche utilizzati tre termini, nei seguenti formati standard, per mettere in evidenza circostanze e avvertenze speciali.

**NOTA:** una nota indica informazioni aggiuntive importanti, fornite con alcune procedure.

**AVVERTENZA**

*Il termine AVVERTENZA viene utilizzato per informare l'operatore riguardo a situazioni che potrebbero causare* ***lesioni personali*** *all'operatore o ad altre persone. Le informazioni su tali circostanze sono contenute in un riquadro simile a questo.*

**ATTENZIONE**

*Il termine ATTENZIONE viene utilizzato per informare l'operatore riguardo a situazioni che potrebbero causare* ***gravi danni allo strumento*** *o ad altre apparecchiature. Le informazioni su tali circostanze sono contenute in un riquadro simile a questo.*

# *Informazioni sulla sicurezza*

# Informazioni generali sulla sicurezza

Gli strumenti Lambda Bio/XLS sono conformi alle prescrizioni della Direttiva bassa tensione 2006/95/CE, della Direttiva EMC (compatibilità elettromagnetica) 2004/108/CE e della Direttiva IVD (diagnostici in vitro) 98/79/CE.

Standard a fronte dei quali viene dichiarata la conformità:

- EN 61010-1 – Prescrizioni di sicurezza per apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio.
- EN 61010-2-101 – Prescrizioni particolari per apparecchiature mediche per la diagnosi in vitro.
- BS EN 591 – Istruzioni per l'uso relative a strumenti per diagnosi in vitro ad uso professionale.
- BS EN 13612 – Valutazione delle prestazioni di dispositivi medici per la diagnosi in vitro.
- EN 61326-2.3 – Compatibilità elettromagnetica: standard sulle emissioni generiche di apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio.
- EN 61326 – Compatibilità elettromagnetica: standard sulle emissioni generiche di apparecchi elettrici di misura, controllo e per utilizzo in laboratorio. Classificati come Classe B per emissioni condotte e irradiate.

Questo dispositivo reca la marcatura WEEE (Waste Electrical and Electronic Equipment) ai sensi della Direttiva europea 2002/96/CE relativa allo smaltimento delle apparecchiature elettriche ed elettroniche. Per ulteriori informazioni consultare il manuale sulla sicurezza *Lambda Bio/XLS Safety Manual* (L6050014).

Sullo strumento sono presenti numerose etichette e simboli di avvertenza, volti a informare l'utilizzatore dell'esistenza di potenziali pericoli o della necessità di particolari cautele. Prima di dare avvio all'installazione, esaminare questi simboli e il relativo significato.

Lo strumento è soggetto ai rischi riportati di seguito.

*La fonte UV contenuta all'interno dell'unità, genera un fascio di luce che attraversa il comparto campioni durante la misurazione degli stessi. In condizioni di utilizzo normale, questo fascio è contenuto all'interno dell'unità e si verifica l'emissione di radiazioni UV dal sistema. Tuttavia, occorre prestare attenzione a che non vengano posti oggetti riflettenti nel fascio durante la misurazione dei campioni per evitare che il fascio venga riflesso al di fuori del sistema. L'esposizione prolungata al fascio può causare danni oculari permanenti. Limitazioni identiche si applicano se il supporto dei campioni viene rimosso dall'unità per la pulizia. Questa operazione deve essere eseguita solo con lo strumento scollegato dall'alimentazione elettrica.*

- All'interno dell'unità sono presenti tensioni elevate. Gli interventi di manutenzione e riparazione devono essere effettuati solo da personale esperto, idoneo a intervenire su questi strumenti.

*Sebbene con contenga materiali a rischio biologico, l'unità potrebbe, tuttavia, essere utilizzata con campioni a rischio biologico. Data la natura per uso generale di questi strumenti e l'ampia varietà di impieghi ai quali sono esposti, non è possibile definire le esatte procedure di decontaminazione per i numerosi tipi di campioni analizzati. Tali procedure devono essere stabilite dall'utilizzatore, o dall'addetto alla salute e alla sicurezza, prima di usare lo strumento. Indicazioni al riguardo sono reperibili nel documento* M29-A3 Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guidelines *pubblicato dallo US Clinical and Laboratory Standards Institute. Il vano dei campioni può essere rimosso e pulito immergendolo per almeno 30 minuti in un disinfettante idoneo al rischio biologico cui è stato esposto. Il vano deve quindi essere sciacquato con acqua distillata sterile e fatto asciugare. Analogamente, è possibile pulire le superfici esterne dell'unità con un disinfettante adeguato, utilizzando una salvietta o un panno morbido. Eventuali versamenti interni devono essere puliti con materiale assorbente attraverso l'apertura del vano campioni, e ugualmente decontaminato il vano con salviette imbevute di disinfettante.*

## *Certificati di decontaminazione*

Se occorresse restituire lo strumento, è necessario un certificato di decontaminazione. I certificati di decontaminazione sono disponibili al seguente indirizzo Web o forniti dall'assistenza clienti:

http://www.perkinelmer.com/LambdaBioXLSSupport

È responsabilità dell'utilizzatore garantire un ambiente operativo sicuro per il tecnico o per il personale, con un'adeguata valutazione dei rischi e, se pertinente, con adeguate procedure di decontaminazione prima dell'inizio del lavoro.

## *Prodotti chimici*

Utilizzare, conservare e smaltire i prodotti chimici necessari per le analisi in conformità con le raccomandazioni del produttore e delle norme locali in materia di sicurezza.

## *Vapori tossici*

Se si utilizzassero solventi volatili o sostanze tossiche, è necessario disporre di un sistema efficiente di ventilazione del laboratorio per rimuovere i vapori che si potrebbero generarsi quando si eseguono le analisi.

## *Smaltimento dei rifiuti*

I contenitori per i rifiuti possono contenere soluzioni organiche o corrosive e piccole quantità delle sostanze analizzate. Se questi materiali fossero tossici, potrebbe essere necessario trattare gli effluenti raccolti come rifiuti pericolosi. Per informazioni sulle corrette procedure di smaltimento, fare riferimento alle norme locali in materia di sicurezza.

## *Apparecchiature protettive personali*

Sebbene non siano necessarie apparecchiature protettive personali per l'utilizzo del dispositivo, i campioni da analizzare potrebbero richiedere l'uso di tali apparecchiature protettive personali. In tal caso, è necessaria una valutazione dei rischi condotta dall'utilizzatore o dall'addetto alla salute e alla sicurezza.

## *Utilizzatore finale*

Questo strumento deve essere usato da individui esperti nell'utilizzo degli spettrofotometri e che conoscono bene i rischi ad essi associati, come descritti sopra. Nel caso in cui si verifichi un guasto o si crei una situazione di pericolo, l'utilizzatore responsabile deve scollegare l'unità dall'alimentazione elettrica e isolare lo strumento per la decontaminazione con mezzi idonei, in caso di versamenti di materiale a rischio biologico all'interno o vicini dello strumento.

# *Apertura della confezione e installazione*

- Questa apparecchiatura è progettata per essere installata in conformità con il Canadian Electrical Code (CEC) Parte 1, CSA C22.1 e CSA C22.2 No. 0.
- Controllare lo strumento per verificare che non presenti danni causati durante il trasporto. Se si rilevassero danni, accedere alla guida alla risoluzione dei problemi sul sito web di PerkinElmer all'indirizzo http://www.perkinelmer.com/LambdaBioXLSSupport e seguire le istruzioni fornite. Se non si avesse accesso al sito web, rivolgersi all'assistenza clienti (see *Appendice 2 - Recapiti dell'assistenza* clienti a pagina 123).
- Verificare che il sito di installazione previsto sia conforme alle condizioni ambientali per l'utilizzo sicuro:

  Solo per uso in interni

  Intervallo di temperatura compreso tra 5 °C e 35 °C

  Umidità relativa massima dell'80% fino a 31 °C, con riduzione lineare al 50% a 40 °C

**NOTA:** se si utilizzasse lo strumento in una stanza soggetta a variazioni estreme di temperatura durante il giorno, potrebbe essere necessario ripetere la calibrazione (spegnendo e riaccendendo lo strumento) finché non si stabilisce l'equilibrio termico (2–3 ore).

- Se lo strumento fosse appena stato disimballato o fosse stato conservato in un ambiente freddo, occorrerebbe attendere 2-3 ore che raggiunga l'equilibrio termico nel laboratorio prima dell'accensione. In questo modo si evita un errore di calibrazione causato dalla formazione di condensa interna.
- Lo strumento deve essere collocato su un piano stabile e uniforme in grado di sostenerne il peso (circa 4,5 kg) con uno spazio libero circostante sufficiente per la circolazione dell'aria.
- Questo strumento deve essere collegato alla presa elettrica con il cavo e l'alimentatore in dotazione. Può essere usato a 100–240 V, 50–60 Hz.
- Lo strumento deve essere posizionato in modo che il cavo elettrico possa essere facilmente scollegato dall'unità nel caso in cui si verifichi un guasto o si crei una situazione di pericolo.
- Collocare lo strumento in un'atmosfera esente da polvere e vapori corrosivi.
- Prima dell'uso, leggere per intero il manuale d'uso.
- Accendere lo strumento tramite il pulsante ON/OFF sulla tastiera dopo il collegamento alla presa elettrica. Lo strumento eseguirà una serie di controlli autodiagnostici.

**AVVERTENZA**

*Se l'apparecchiatura non venisse utilizzata nel modo specificato dal presente documento, la protezione interna alla stessa potrebbe essere compromessa e annullare la garanzia.*

# *Installazione dello strumento*

# Apertura della confezione

| | |
|---|---|
| **ATTENZIONE** | *Prestare molta attenzione durante l'installazione dello strumento e seguire le procedure descritte nel presente manuale.* |

1. Controllare che siano disponibili gli articoli riportati nella tabella sottostante.

| **Numero parte** | **Descrizione** |
|---|---|
| L7110184/L7110186 | Lambda Bio/Bio+ (se pertinente) |
| L7110185/L7110187 | Lambda Bio/Bio+ con stampante (se pertinente) |
| L7110188 | Lambda Bio+ con SD (se pertinente) |
| L6050014 | Manuale sulla sicurezza Lambda Bio/XLS |
| L6050018 | CD della documentazione Lambda Bio/XLS |
| L7111023 | Copricuvette antipolvere |
| L7110231 | Lambda Bio/XLS Print Utility e cavo (se pertinente) |
| L7110263 | Cuvette micro UV (pacchetto da 8) |
| | Cavo di alimentazione |

2. Esaminare le componenti per verificare che non presentino danni causati durante la spedizione.

   - Controllare l'involucro esterno dello strumento per verificare che non presenti danni e assicurarsi che le uscite siano integre.

   - Verificare che il vano campioni sia privo di polvere o altri residui.

**NOTA:** se si rilevassero danni o parti mancanti, accedere alla guida alla risoluzione dei problemi sul sito web di PerkinElmer all'indirizzo http://www.perkinelmer.com/LambdaBioXLSSupport e seguire le istruzioni fornite. Se non si avesse accesso al sito web, rivolgersi all'assistenza clienti (vedere *Appendice 2 - Recapiti dell'assistenza* clienti a pagina 123).

# *Collegamento all'alimentazione elettrica di linea*

***Rischi elettrici***

*Per evitare potenziali lesioni alle persone e danni allo strumento, effettuare eventuali collegamenti all'interno del sistema prima di collegare lo strumento all'alimentazione elettrica.*

*Lo strumento si regola automaticamente in base alla tensione di esercizio corretta.*

- Collegare lo strumento alla presa elettrica con il cavo e l'alimentatore forniti, adeguati all'area geografica.

  Usare il cavo e l'alimentatore forniti in dotazione con lo strumento.

**NOTA:** se lo strumento fosse appena stato disimballato o fosse stato conservato in un ambiente freddo, occorrerebbe attendere 2-3 ore affinché raggiunga l'equilibrio termico nel laboratorio prima dell'accensione. In questo modo si evita un errore di calibrazione causato dalla formazione di condensa interna.

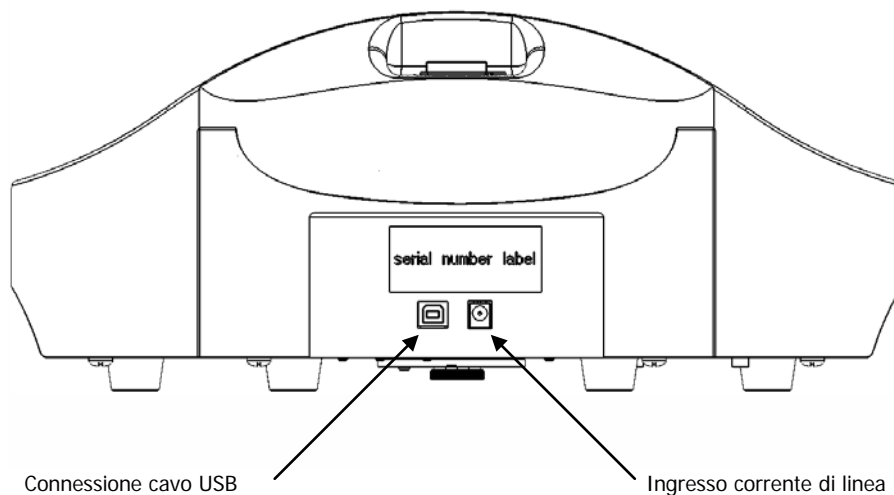



**Figura 1 Connessioni posteriori sullo strumento Lambda Bio/XLS**

L'interruttore di accensione/spegnimento si trova in altro a sinistra sulla tastiera.

# *Uso dello strumento*

# Panoramica dello strumento

Lo strumento Lambda Bio/Bio+ è uno spettrometro UV/Visible facile da usare, dotato di un rivelatore CCD (1024 pixel).

Per accedere alle cartelle e alle funzioni disponibili sullo strumento Lambda Bio/Bio+, spostarsi nel display utilizzando i tasti alfanumerici e le frecce di spostamento sulla tastiera.

**Figura 2 Tastiera e display**

| Tasto | Azione |
|---|---|
| Pannello di visualizzazione | Visualizza le cartelle, opzioni di menu che consentono di effettuare le analisi e di visualizzare i risultati. |
| | Accende e spegne lo strumento. |
| | Usare le quattro frecce per spostarsi nel display e attivare l'impostazione necessaria evidenziandola. |
| | Il tasto Opzioni visualizza le opzioni per quel metodo. Vedere *Opzioni* a pagina 25 per ulteriori informazioni. Per le opzioni relative ad un determinato metodo, vedere la sezione rilevante. |
| 0A 100%T | Il tasto 0A/100%T imposta una misurazione di autozero per la soluzione di riferimento a 0,000 A o 100%T alla lunghezza d'onda attuale. Quando è attiva la modalità di scansione, viene eseguita una scansione di riferimento. |

| **Tasto** | **Azione** |
|---|---|
| | Il tasto Annulla/Indietro/Arresta annulla una selezione e ritorna alla cartella precedente, torna alla schermata precedente in un metodo o arresta una misurazione. |
| | Il tasto **OK**/**Avanti/Esegui/Scansione** attiva o conferma una selezione, passa alla schermata successiva o effettua una misurazione. |
| Tasti alfanumerici | Consentono di accedere ai parametri, di selezionare opzioni di menu e di scrivere descrizioni di testo, ove pertinente. Premere più volte il tasto per minuscole, numero, maiuscole. Attendere 1 secondo prima di immettere il carattere successivo.<br>Usare il tasto C per cancellare il carattere a sinistra del cursore. Premere 1 per inserire uno spazio. |

# Accensione dello strumento

**NOTA:** se lo strumento fosse appena stato disimballato o fosse stato conservato in un ambiente freddo, occorrerebbe attendere 2-3 ore affinché raggiunga l'equilibrio termico nel laboratorio prima dell'accensione. In questo modo si evita un errore di calibrazione causato dalla formazione di condensa interna.

| **ATTENZIONE** | *Non accendere e spegnere rapidamente lo strumento per evitare di danneggiare l'alimentatore.*<br><br>*Attendere almeno 30 secondi prima di riavviare lo strumento.* |
|---|---|

- Accendere lo strumento tramite l'interruttore di accensione/spegnimento sulla tastiera, come mostrato nella Figura 3.

  Lo strumento esegue una serie di controlli diagnostici.

**NOTA:** se durante la calibrazione fosse visualizzato un messaggio di errore, permere il tasto **OK** ▶ per rilanciare la procedura. Ad ogni modo dopo tre tentativi, verrà visualizzata la pagina iniziale. È consigliabile **NOT** utilizzare lo strumento. Prendere nota del messaggio visualizzato e cercare nella guida “Troubleshooting Guide” sul sito PerkinElmer.

Dopo l'accensione e la calibrazione, viene visualizzata la pagina iniziale predefinita.

Per aprire un metodo o una cartella, premere il numero corrispondente sulla tastiera.

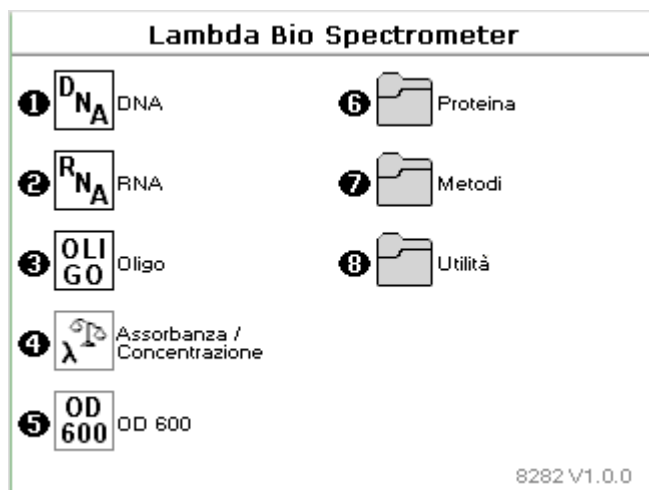



**Figura 3 Pagina iniziale del Lambda Bio**

# *Uso del software*

La pagina iniziale contiene un elenco di cartelle e funzioni o metodi. Ciascuna voce dell'elenco è numerata e per aprirla usare il numero corrispondente sulla tastiera. L'apertura di una cartella porta ad un'altra schermata contenente ulteriori opzioni. L'apertura di un metodo visualizza la schermata dei parametri, che consente di impostare i parametri necessari prima di utilizzare il metodo per effettuare le analisi.

**Figura 4 Contenuto di una schermata tipica relativa ai parametri**

## *Spostamento*

- Per spostarsi tra le impostazioni usare le frecce su e giù.

## *Immissione dei parametri*

- Per immettere i parametri usare i tasti numerici.

  OPPURE

  Se la casella contenesse il simbolo ☒, immettere un valore o premere il tasto opzioni e scegliere un'opzione nella schermata successiva.

  OPPURE

  Se la casella contenesse il simbolo della freccia, utilizzare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare l'impostazione necessaria.

## *Misurazioni*

Dopo aver immesso i parametri, premere **OK** ▶ per lanciare le analisi. Verrà visualizzata la schermata dei risultati per il metodo.

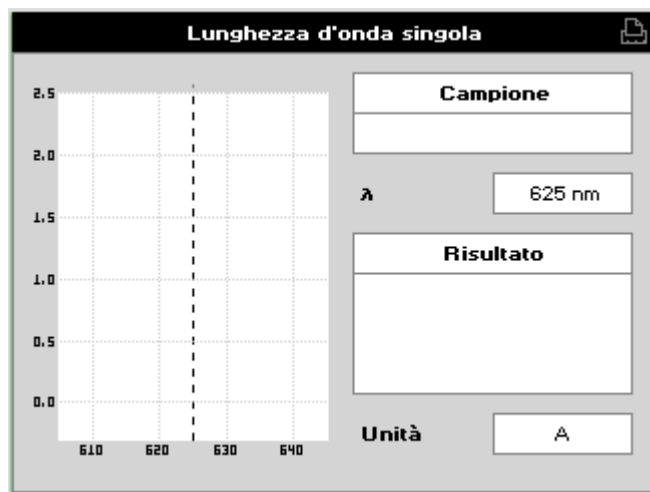



**Figura 5 Schermata dei risultati tipica**

1. Inserire il campione di riferimento nel supporto dei campioni e premere OA/100%T per effettuare la misurazione di riferimento.
2. Inserire il primo campione e premere ▶.
3. Ripetere il punto 2 per ciascun campione.

## *Risultati*

Nella schermata vengono visualizzati i risultati.

> **NOTA:** I risultati mostrati come ---- indicano che la concentrazione non rientra nell'intervallo, ad esempio se si ottenesse un valore di assorbanza negativo.

**Figura 6 La schermata dei risultati per il metodo Lunghezza d'onda singola**

## *Opzioni*

Nell'ambito di ciascun metodo è possibile selezionare varie opzioni che definiscono il modo in cui vengono trattati i risultati. Queste opzioni possono essere specifiche del metodo e consentono di stampare i risultati o di visualizzare i parametri.

➢ Premere Opzioni per visualizzare il menu Opzioni.

Nella tabella sottostante sono riportate le opzioni disponibili.

| Opzione | Testo | Funzione |
|---|---|---|
| 1 | Parametri | Viene visualizzata nuovamente la schermata Parametri per il metodo specifico. |
| 2 | Stampa | Stampa i risultati. |
| 3–6 | N/A | Specifica del metodo. |
| 7 | Numero campione | Definisce il numero di campione dal quale si desidera iniziare a effettuare le misurazioni. |
| 8 | Salva metodo | Consente di salvare la schermata Parametri come nuovo metodo nella cartella Metodi o Preferiti, oppure, se installata, in una Scheda di memoria SD. È possibile salvare fino a 9 metodi in ciascuna cartella.<br>**NOTA:** In Lambda Bio non è presente la cartella Preferiti.<br>**NOTA:** È possibile salvare i metodi da più tipi di strumenti nella stessa Scheda di memoria SD. I Metodi vengono salvati nella scheda in una directory predefinita che dipende dal tipo di strumento: \<Instrument type>\Methods. Ad esempio, \Lambda XLS\Methods |
| 9 | Stampa automatica | Attiva e disattiva la stampa automatica. L'impostazione predefinita è off. |

- Per chiudere le opzioni del metodo premere [icona] o [icona], o attendere 20 secondi.

  I tasti numerici possono fungere da tasti di scelta rapida per l'opzione desiderata senza dover aprire il menu Opzioni.

Se si utilizzasse un metodo salvato precedentemente, si consiglia di controllare che queste opzioni siano state definite correttamente per la sperimentazione specifica, prima di analizzare i campioni.

**NOTA:** se si impostasse il parametro **Cronologia** su **On** (vedere *Preferenze* a pagina 37), lo strumento memorizza le ultime impostazioni definite. Se si impostasse il parametro **Cronologia** su **Off**, tutti i parametri e le opzioni ritornano ai valori predefiniti quando si lascia il metodo, a meno che non siano stati salvati come parte di un metodo.

# Metodi e preferiti

La cartella Metodi consente di memorizzare i metodi definiti dall'utente, in base ai metodi predefiniti dello strumento, che possono essere salvati mediante il menu Opzioni. È possibile salvare fino a 9 metodi in ciascuna cartella. Per recuperare i metodi salvati precedentemente, premere il numero corrispondente sulla tastiera per accedere alla cartella Metodi. È inoltre possibile esportare (backup) metodi in una scheda SD o importare (ripristino) metodi da una Scheda di memoria SD.

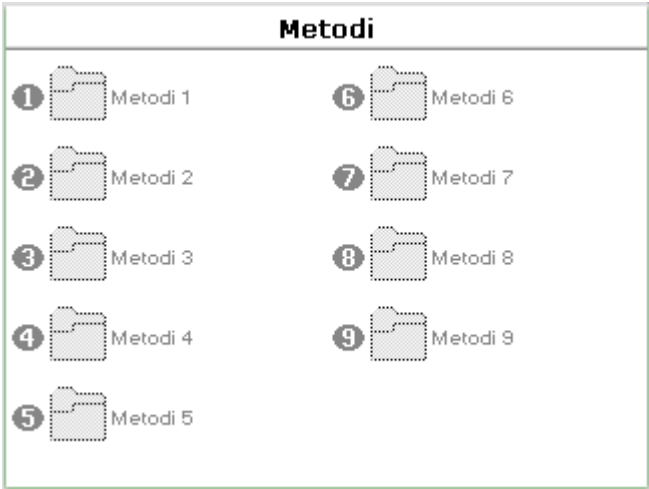



**Figura 7 Cartella Metodi**

## Opzioni cartella

- Premere per visualizzare le opzioni disponibili nella cartella Metodi, che è possibile selezionare tramite i tasti numerici.

| **Opzione** | **Testo** | **Funzione** |
|---|---|---|
| 1 | Nomi di cartelle | Consente di assegnare un nuovo nome alla cartella Metodi. |
| 2 | Blocca cartella | Consente all'utente di bloccare la cartella. |
| 3 | Sblocca cartella | Consente all'utente di sbloccare la cartella. |
| 4 | Scheda di memoria SD | Consente all'utente di aprire la scheda SD. Questa opzione è applicabile solo qualora nello strumento sia installato un SD. |

### *Nomi di cartelle*

1. Aprire la cartella Metodi.
2. Premere per visualizzare le opzioni disponibili.
3. Premere 1 per selezionare **Nomi di cartelle**.

4. Selezionare la **Cartella** alla quale si desidera assegnare un nuovo nome utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.
5. Immettere un **Nuovo nome** per la cartella mediante i tasti alfanumerici.
6. Premere **OK** per assegnare un nuovo nome alla cartella.

### *Blocca cartella*

1. Aprire la cartella Metodi.
2. Premere per visualizzare le opzioni disponibili.
3. Premere 2 per selezionare **Blocca cartella**.
4. Selezionare la **Cartella** da bloccare utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

5. Immettere un **Codice di accesso** per la cartella mediante i tasti alfanumerici o i tasti freccia sinistra e destra.

6. Premere **Blocco** per bloccare la cartella.

### *Sblocca cartella*

1. Aprire la cartella Metodi.

2. Premere per visualizzare le opzioni disponibili.

3. Premere 3 per selezionare **Sblocca cartella**.

4. Selezionare la **Cartella** da sbloccare utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

5. Immettere il **Codice di accesso** per la cartella mediante i tasti alfanumerici o i tasti freccia sinistra e destra.

6. Premere **Sblocca** per sbloccare la cartella.

### *Scheda di memoria SD*

Se nello strumento è installata una Scheda di memoria SD, è possibile accedere alla cartella delle opzioni della Scheda di memoria SD. Le opzioni **Esegui backup della cartella** o **Esegui backup di tutte le cartelle** consentono di copiare una cartella dei metodi o tutte le cartelle dei metodi rispettivamente nel proprio strumento o nella Scheda di memoria SD. I metodi da più strumenti possono essere salvati nella stessa scheda. I metodi vengono salvati in una directory predefinita \<Serial Number>\BACKUP

Ad esempio, \1000\BACKUP\METHODS\Methods 1

La Scheda di memoria SD può essere inserita nel lettore di schede collegato al PC. È possibile rinominare i metodi (fino a un massimo di 24 caratteri) e spostarli da una cartella all'altra. Le opzioni **Ripristina cartella** o **Ripristina tutte le cartelle** consentono di ripristinare il contenuto della cartella o quello della directory di backup della Scheda di memoria SD. Se si seleziona **Ripristina cartella** oppure **Ripristina tutte le cartelle**, tutti i metodi nella cartella saranno sovrascritti. Se è stata rinominata la cartella di uno strumento, il nome della cartella verrà sovrascritto con quello della directory di backup della Scheda di memoria SD.

**NOTA:** Se si rinomina una cartella nella Scheda di memoria SD e poi si prova a ripristinarne il contenuto, lo strumento non riconoscerà la cartella che non verrà quindi ripristinata.

La funzione **Ripristina tutte le cartelle** può anche essere utilizzata per impostare più strumenti dello stesso tipo affinché abbiano la stessa struttura di metodi e cartelle. Accedere a Esplora risorse nella cartella \<Serial Number>\BACKUP che contiene i metodi che si desidera utilizzare, quindi rinominare la cartella \<Instrument Type>\BACKUP. È quindi possibile eseguire il ripristino normalmente.

Per sottoporre a backup o ripristinare le cartelle:

1. Aprire la cartella Metodi.
2. Premere per visualizzare le opzioni disponibili.
3. Premere 4 per selezionare **Scheda di memoria SD**.
   Verrà visualizzata la schermata Scheda di memoria SD.

4. Selezionare la modalità di **Funzionamento** utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.
   Le opzioni disponibili sono: **Esegui backup della cartella**, **Esegui backup di tutte le cartelle**, **Ripristina cartella** o **Ripristina tutte le cartelle**.
5. Selezionare la **Cartella** utilizzando i tasti freccia destra e sinistra.
6. Premere **OK** .

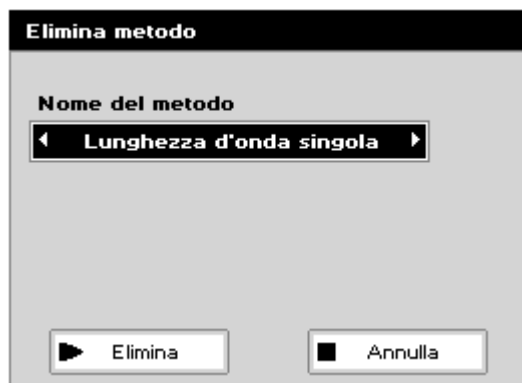
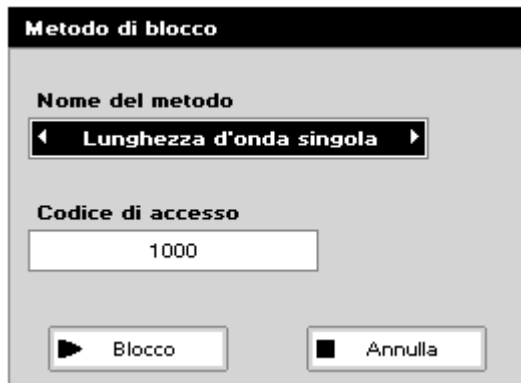
**NOTA:** Il LED accanto alla scheda si accenderà durante il salvataggio dei metodi nella scheda. Non rimuovere la scheda quando il LED è acceso poiché potrebbe danneggiare i metodi. Per alcuni metodi è necessario chiudere il metodo per terminare la stampa. Per ulteriori informazioni, consultare il manuale d'uso dell'utilità di stampa del *Lambda Bio/XLS* (*Lambda Bio/XLS Print Utility User's Guide* [L6050015]).

# *Opzioni metodo*

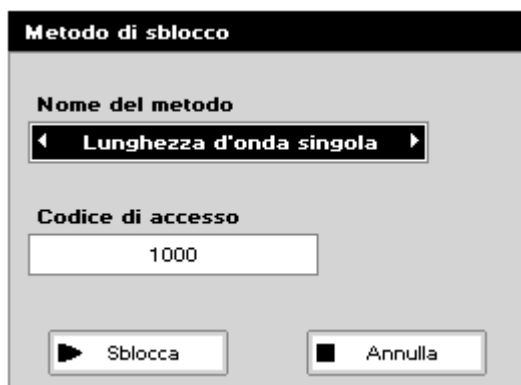
➢ Premere per visualizzare le opzioni disponibili nella cartella Metodi, che è possibile selezionare tramite i tasti numerici.

| Opzione | Testo | Funzione |
|---|---|---|
| 1 | Elimina metodo | Elimina il metodo. |
| 2 | Metodo di blocco | Consente all'utente di bloccare il metodo. |
| 3 | Metodo di sblocco | Consente all'utente di sbloccare il metodo. |

## *Elimina metodo*

1. Aprire la cartella Metodi appropriata.
2. Premere per visualizzare le opzioni disponibili.
3. Premere 1 per selezionare **Elimina metodo**.
4. Selezionare il metodo da eliminare utilizzando i tasti freccia sinistra e destra.

5. Premere **Elimina** per eliminare il metodo.

## *Metodo di blocco*

1. Aprire la cartella Metodi appropriata.
2. Premere per visualizzare le opzioni disponibili.

3. Premere 2 per selezionare **Metodo di blocco**.

4. Selezionare il metodo da bloccare utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

5. Selezionare un codice di accesso utilizzando i tasti numerici o i tasti freccia sinistra e destra.

6. Premere **Blocco** per bloccare il metodo.

## *Metodo di sblocco*

1. Aprire la cartella Metodi appropriata.

2. Premere per visualizzare le opzioni disponibili.

3. Premere 3 per selezionare **Metodo di sblocco**.

4. Selezionare il metodo da sbloccare utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

5. Immettere un codice di accesso utilizzando i tasti numerici o i tasti freccia sinistra e destra.

6. Premere **Sblocca** per sbloccare il metodo.

# Metodi dello strumento Lambda Bio/Bio+

Di seguito sono riportati i metodi predefiniti disponibili sullo strumento Lambda Bio/Bio+.

## Applicazioni (solo Lambda Bio+)

- Lunghezza d'onda singola
- Lunghezza d'onda multipla
- Spettro
- Concentrazione
- Curva Standard
- Dati cinetici
- Rapporto di assorbanza

## Acidi nucleici

- DNA
- RNA
- Oligo

## Proteina

- UV proteina
- BCA
- Bradford
- Lowry
- Biuret

- OD 600

- Assorbanza e concentrazione (solo Lambda Bio).

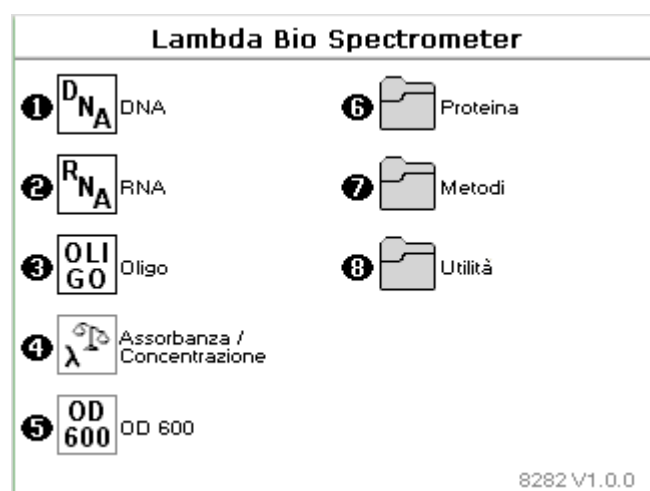



**Figura 8 Pagina iniziale del Lambda Bio**

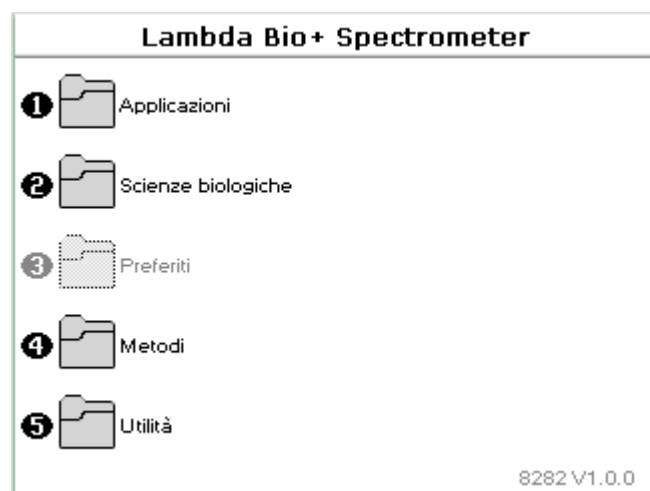



**Figura 9 Pagina iniziale del Lambda Bio+**

# *Utilità*

La cartella Utilità consente di modificare l'impostazione dello strumento.

- Premere il tasto numerico appropriato per accedere alla cartella Utilità. Verrà visualizzata la schermata Utilità.

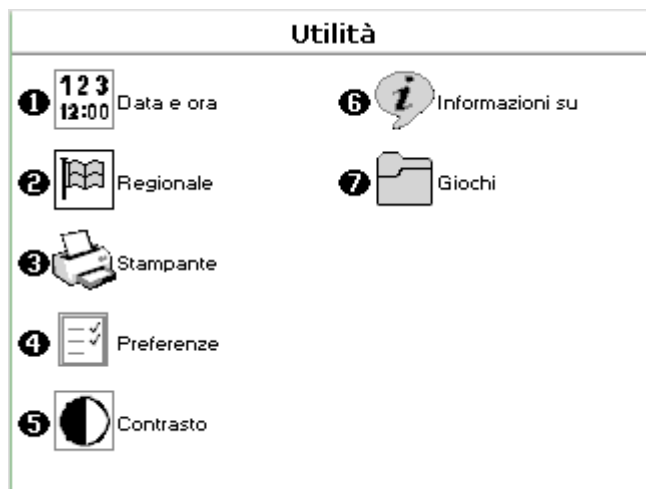



**Figura 10 Schermata Utilità**

Nella tabella sottostante sono riportate le utilità disponibili.

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Data e ora | Impostare la data e l'ora corrette. |
| 2 | Regionale | Selezionare CLAUDI O le preferenze per la lingua e il formato dei numeri. |
| 3 | Stampante | Opzioni stampante/output. |
| 4 | Preferenze | Selezionare il layout della schermata (temi) e la cronologia. |
| 5 | Contrasto | Regolare il contrasto e la luminosità dello schermo. |
| 6 | Informazioni su | Numero di serie e versione del software. |
| 7 | Giochi | Spectro Blocks/Sudoku. |

## Data e ora

1. Premere 1 per selezionare **Data e ora**.

   Verrà visualizzata la schermata Data e ora.

2. Immettere il **giorno, il mese, l'anno l'ora** e **i minuti** mediante i tasti alfanumerici o i tasti freccia sinistra e destra.

3. Premere **OK** per salvare le impostazioni e ritornare alla cartella Utilità.

   I secondi vengono azzerati quando si preme **OK**.

## Regionale

1. Premere 2 per selezionare **Regionale**.

   Verrà visualizzata la schermata Regionale.

2. Selezionare una **lingua** utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

   Le opzioni disponibili sono cinese, francese, inglese, tedesco, italiano, giapponese o spagnolo.

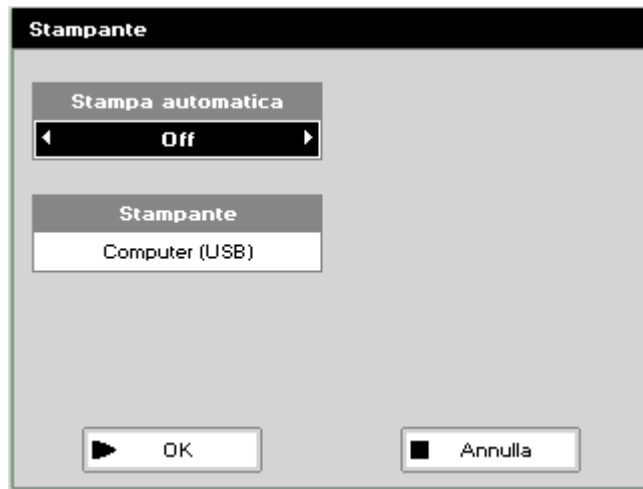
3. Selezionare il **Formato numero** (il tipo di separatore decimale) utilizzando i tasti freccia destra e sinistra.

   Le opzioni sono "**,**" o "**.**".

4. Premere **OK** per salvare le impostazioni e ritornare alla cartella Utilità.

## *Stampante*

1. Premere 3 per selezionare **Stampante**.

   Verrà visualizzata la schermata Stampante.

2. Selezionare **On** o **Off** per la **stampa automatica** utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere la freccia giù.

   Se si attivasse (**On**) la **Stampa automatica**, i risultati verrebbero stampati automaticamente quando si effettua una misurazione o quando si esce dall'applicazione, a seconda del metodo. Nell'angolo in alto a destra della schermata dei risultati dei metodi verrà visualizzata l'icona appropriata per l'opzione della stampante.

   Se si disattivasse (**Off**) la **stampa automatica**, la stampa dovrebbe essere avviata manualmente.

3. Selezionare la modalità di invio dei dati.

   Le opzioni sono **Integrato** (la stampante interna), **Computer (USB)** (a un computer tramite la porta USB), **Scheda di memoria SD** o **Computer (Bluetooth)** (a un computer tramite Bluetooth).

   Le opzioni disponibili dipendono dal dispositivo installato nello strumento utilizzato.

**NOTA:** Se è selezionata la Scheda di memoria SD, i dati vengono salvati come file .pvc in una cartella che dipende dal numero di serie dello strumento: \<Serial number>\PVC. Il tipo di metodo è salvato nel nome del file. Per informazioni sulla visualizzazione dei risultati e sul salvataggio dei dati in altri formati, consultare "Lambda Bio XLS Report Utility Viewer" nel manuale d'uso dell'utilità di stampa del *Lambda Bio/XLS (Lambda Bio/XLS Print Utility User's Guide* (L6050015)).

**NOTA:** Se una Scheda di memoria SD è installata nello strumento, il LED accanto alla scheda sarà acceso durante la stampa dei dati sulla scheda. Non rimuovere la scheda dallo strumento quando il LED è acceso poiché i dati potrebbero essere danneggiati. Per alcuni metodi è necessario chiudere il metodo per terminare la stampa. Per ulteriori informazioni, consultare la sezione "Receiving Print Data" nel manuale d'uso dell'utilità di stampa del *Lambda Bio/XLS* (*Lambda Bio/XLS Print Utility User's Guide* (L6050015)).

4. Premere **OK** per salvare le impostazioni e ritornare alla cartella Utilità.

## *Preferenze*

1. Premere 4 per selezionare **Preferenze**.

   Verrà visualizzata la schermata Preferenze.

2. Utilizzando i tasti freccia destra e sinistra, scegliere se i **Giochi** debbano essere disponibili o meno.

   Le opzioni sono **Sì** o **No**.

3. Definire il **Tema** (il layout delle cartelle sullo schermo).

   Le opzioni sono **Griglia** o **Lista**.

4. Selezionare la modalità **Cronologia** utilizzando i tasti freccia destra e sinistra.

   Se si seleziona **Off** lo strumento non ricorda i parametri a meno che non vengano ripristinati come un nuovo metodo. L'impostazione predefinita è **Off**.

5. Scegliere se usare o meno la modalità di **Standby automatico** dopo periodi definiti. Le opzioni sono **1 ora**, **2 ore**, **Di notte** o **Off**.

6. Premere **OK** per salvare le impostazioni e ritornare alla cartella Utilità.

## *Contrasto*

La temperatura ambiente può influire sul display. La funzione di contrasto può ottimizzare la visualizzazione in base alle condizioni locali.

Eseguire la procedura descritta di seguito.

1. Premere 5 per selezionare **Contrasto**.
   Verrà visualizzata la schermata Contrasto.

2. Regolare la **Luminosità** utilizzando i tasti freccia destra e sinistra, quindi premere il tasto freccia giù.

3. Regolare il **Contrasto** utilizzando i tasti freccia sinistra e destra.

4. Premere **OK** per salvare le impostazioni e ritornare alla cartella Utilità.

## *Informazioni su*

La schermata Informazioni su visualizza il numero di serie e la versione dello strumento.

1. Premere 6 per selezionare **Informazioni su**.
   Verrà visualizzata la schermata Informazioni su, per lo strumento utilizzato.

2. Premere **OK** per chiudere la finestra e ritornare alla cartella Utilità.

# *Gestione dei campioni*

- Il fascio luminoso viene diretto da DESTRA a SINISTRA attraverso la camera a celle, come indicato dalle frecce bianche sull'involucro esterno dello strumento. Verificare che la cella venga inserita con l'allineamento corretto.

- Il supporto delle celle fornito con lo strumento accetta celle standard in quarzo, vetro o plastica con cammino ottico di 10 mm.

- L'altezza ottica è di 15 mm, e il volume minimo che può essere usato è di circa 10 µl in una cella ultra-micro.

**NOTA:** quando si utilizzano filtri per calibrazione standard, inserirli in modo che la superficie piatta sia rivolta in direzione opposta all'estremità a molla del supporto delle celle.

**NOTA:** per mantenere il vano dei campioni esente da polvere e residui è fornito un coperchio. Quando lo strumento è in funzione, conservare il coperchio antipolvere in un luogo sicuro nei pressi dello strumento stesso.

# *Metodi dello strumento*

# *Lunghezza d'onda singola*

**NOTA:** questo metodo è disponibile solo sul Lambda Bio+.

Il metodo Lunghezza d'onda singola consente di eseguire le misurazioni dell'assorbanza (A) e della trasmittanza percentuale (%T) sui campioni, tramite la misurazione della quantità di luce che attraversa un campione in relazione a un riferimento (che può essere l'aria).

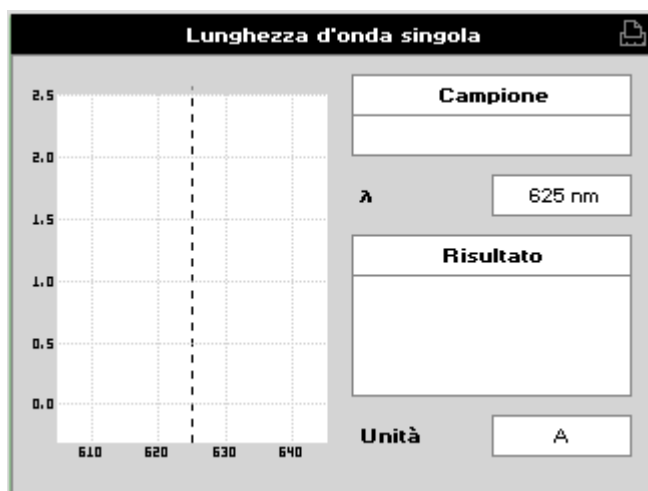
Eseguire la procedura descritta di seguito.

1. Premere 1 per aprire la cartella Applicazioni.
   Verrà visualizzata la schermata Applicazioni.

2. Premere 1 per aprire il metodo Lunghezza d'onda singola.
   Verrà visualizzata la schermata Lunghezza d'onda singola – Parametri.

3. Impostare la **Lunghezza d'onda** utilizzando i tasti numerici o i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

4. Selezionare la **Modalità** utilizzando i tasti freccia destra e sinistra.
   Le opzioni sono **Assorbanza** o **Trasmissione %**.

5. Premere **OK** ▶ per avviare le misurazioni.
   Verrà visualizzata la schermata dei risultati Lunghezza d'onda singola.

6. Inserire il campione di riferimento e premere 0A/100%T.
   Questa misurazione di riferimento sarà utilizzata per tutti i campioni successivi finché non sarà ripetuta.

7. Inserire il primo campione e premere ▶.
   Nella schermata viene visualizzato il risultato alla lunghezza d'onda selezionata. Utilizzare i tasti freccia sinistra e destra per spostare il cursore e visualizzare il valore nella posizione del cursore (±20 nm dalla lunghezza d'onda impostata).

8. Ripetere il punto 7 per ciascun campione.

- Premere per visualizzare le opzioni disponibili, che è possibile selezionare tramite i tasti numerici.

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Parametri | Viene visualizzata nuovamente la schermata Parametri. |
| 2 | Stampa | Stampa i risultati tramite il metodo selezionato. |
| 3 | A/%T | Passa dalla modalità Assorbanza alla modalità Trasmissione % e viceversa. |
| 4 | Stampa grafico | Stampa il grafico. Questa opzione è visualizzata in grigio se non vi sono dati disponibili. |
| 7 | Numero campione | Aggiunge un prefisso al numero del campione e ripristina il numero ascendente al valore desiderato. |
| 8 | Salva metodo | Usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una cartella e salvare il metodo in (Preferiti/Metodi 1–9), quindi premere il tasto freccia giù e immettere un nome per il metodo. Premere **Salva** per salvare il metodo. |
| 9 | Stampa automatica | Attiva e disattiva la stampa automatica. |

- Per chiudere le opzioni del metodo premere o , o attendere 20 secondi.

- Al termine della misurazione di tutti i campioni premere per ritornare alla cartella Applicazioni.

# *Lunghezza d'onda multipla*

**NOTA:** questo metodo è disponibile solo sul Lambda Bio+.

Il metodo Lunghezza d'onda multipla può fornire i valori dell'assorbanza fino a 5 lunghezze d'onda.

Eseguire la procedura descritta di seguito.

1. Premere 1 per aprire la cartella Applicazioni.
   Verrà visualizzata la schermata Applicazioni.

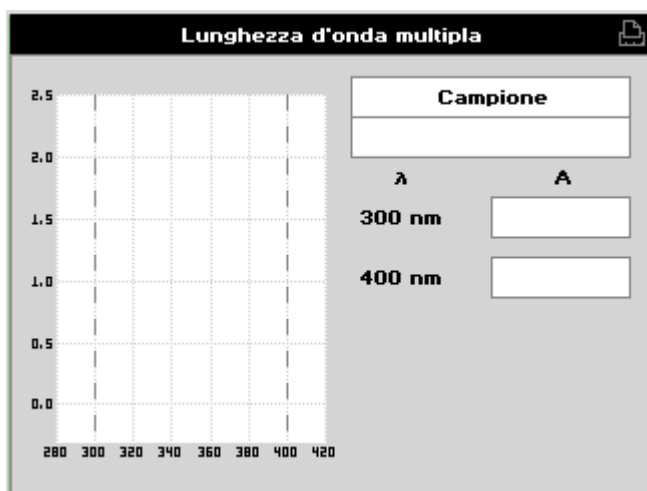
2. Premere 2 per aprire il metodo Lunghezza d'onda multipla.
   Verrà visualizzata la schermata Lunghezza d'onda multipla – Parametri.

3. Selezionare il numero di **Lunghezze d'onda**, quindi premere il tasto freccia giù.
   Le opzioni sono tra 2 e 5.

4. Impostare la prima lunghezza d'onda (**λ1**) utilizzando i tasti numerici o i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

5. Ripetere il punto 4 per ciascuna lunghezza d'onda.

6. Premere **OK** per avviare le misurazioni.

   Verrà visualizzata la schermata dei risultati Lunghezza d'onda multipla.

7. Inserire il campione di riferimento e premere 0A 100%T.

   Questa misurazione di riferimento sarà utilizzata per tutti i campioni successivi finché non sarà ripetuta.

8. Inserire il primo campione e premere .

   Verrà visualizzato uno spettro che copre l'intervallo di lunghezze d'onda, con cursori che segnano le lunghezze d'onda selezionate. Verrà visualizzata anche una tabella dei valori di assorbanza a quelle lunghezze d'onda.

9. Ripetere il punto 8 per ciascun campione.

- Premere per visualizzare le opzioni disponibili, che è possibile selezionare tramite i tasti numerici.

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Parametri | Viene visualizzata nuovamente la schermata Parametri. |
| 2 | Stampa | Stampa i dati nella schermata dei risultati (la tabella di assorbanza) tramite il metodo selezionato. |
| 4 | Stampa grafico | Stampa il grafico. Questa opzione è visualizzata in grigio se non vi sono dati disponibili. |
| 7 | Numero campione | Aggiunge un prefisso al numero del campione e ripristina il numero ascendente al valore desiderato. |
| 8 | Salva metodo | Usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una cartella e salvare il metodo in (Preferiti/Metodi 1–9), quindi premere il tasto freccia giù e immettere un nome per il metodo. Premere **Salva** per salvare il metodo. |
| 9 | Stampa automatica | Attiva e disattiva la stampa automatica. |

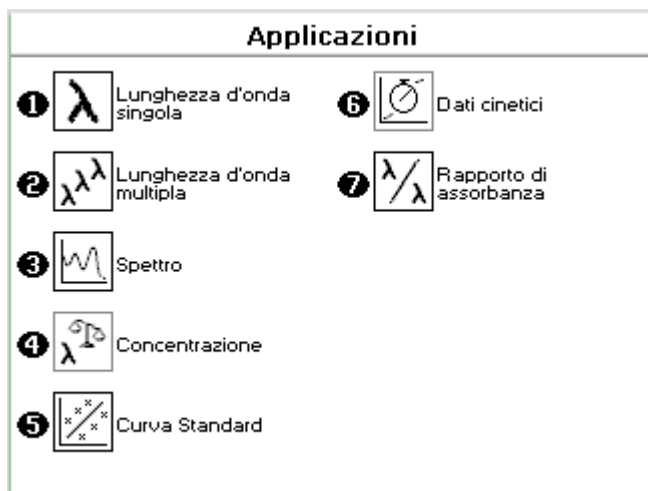
- Per chiudere le opzioni del metodo premere o , o attendere 20 secondi.
- Al termine della misurazione di tutti i campioni premere per ritornare alla cartella Applicazioni.

# Spettro

**NOTA:** questo metodo è disponibile solo sul Lambda Bio+.

Il metodo Spettro consente di acquisire uno spettro e di determinare le altezze massime e le posizioni.

Eseguire la procedura descritta di seguito.

1. Premere 1 per aprire la cartella Applicazioni.
   Verrà visualizzata la schermata Applicazioni.

2. Premere 3 per aprire il metodo Spettro.
   Verrà visualizzata la schermata Spettro – Parametri.

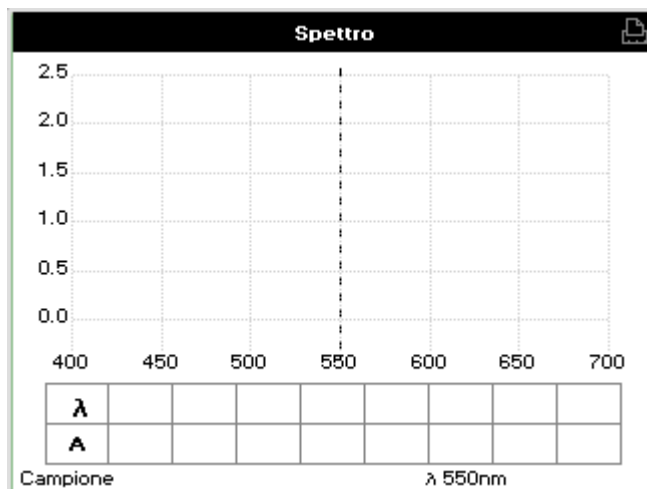
3. Impostare la lunghezza d'onda **Iniziale** utilizzando i tasti numerici o i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

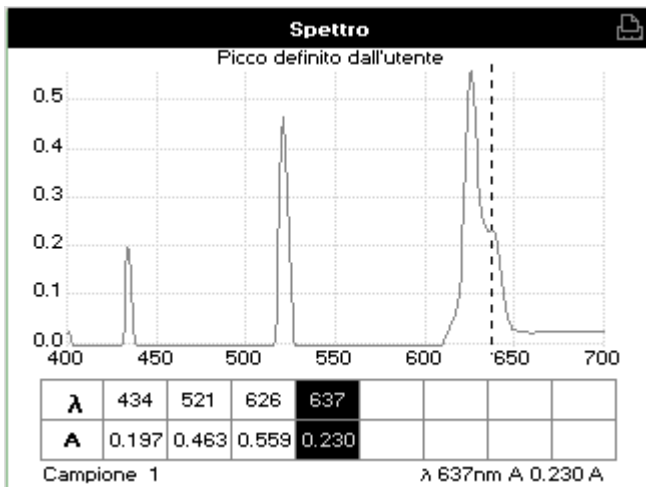
4. Impostare la lunghezza d'onda **Finale** utilizzando i tasti numerici o i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

5. Selezionare la **Modalità** utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

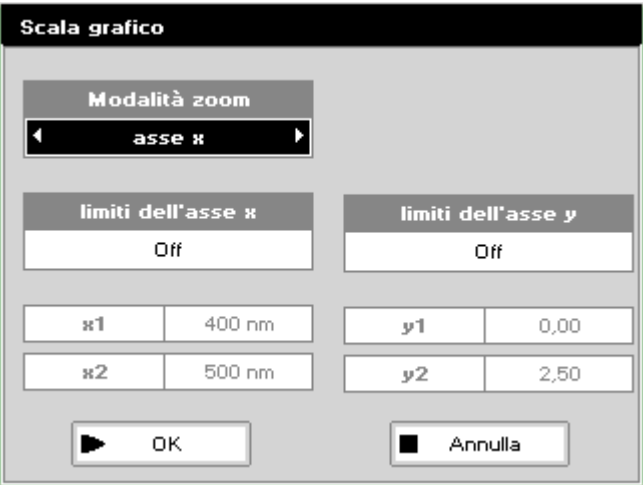
   Le opzioni sono **Assorbanza** o **Trasmissione %**.

6. Premere **OK** per avviare le misurazioni.

   Verrà visualizzata la schermata dei risultati Spettro.

7. Inserire il campione di riferimento e premere .

   Questa misurazione di riferimento sarà utilizzata per tutti i campioni successivi finché sarà ripetuta.

8. Inserire il primo campione e premere .

   Vengono visualizzati uno spettro e una tabella dei valori di assorbanza/trasmissione percentuale in corrispondenza di ciascun picco.

   Utilizzare i tasti freccia sinistra e destra per spostare il cursore lungo il grafico. Quando si raggiunge un picco, nella parte superiore della schermata vengono visualizzate l'altezza e la larghezza del picco. Per ingrandire la scala della lunghezza d'onda, usare il tasto freccia su. Questo ridimensiona automaticamente l'asse assorbanza/trasmissione % (a seconda dell'opzione Scalagrafico) che rimane inalterato per le misurazioni successive. Per ridurre la visualizzazione, usare il tasto freccia giù.

9. Ripetere il punto 8 per ciascun campione.

➢ Premere [icona] per visualizzare le opzioni disponibili, che è possibile selezionare tramite i tasti numerici.

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Parametri | Viene visualizzata nuovamente la schermata Parametri. |
| 2 | Stampa | Stampa i risultati tramite il metodo selezionato. |
| 3 | A/%T | Passa dalla modalità Assorbanza alla modalità Trasmissione % e viceversa. |
| 4 | Rilevamento picchi | Verrà visualizzata la schermata Rilevamento picchi con le relative impostazioni.<br><br>**Auto Picchi**: attiva e disattiva il rilevamento picchi automatico.<br><br>Di seguito sono riportate le opzioni che determinano il modo in cui vengono rilevati i picchi.<br><br>• **Altezza minima picco**: affinché il picco sia rilevato, l'altezza minima del picco deve essere superiore al picco più alto dei due minimi adiacenti.<br><br>• **Larghezza minima picco**: la larghezza minima del picco è determinata dalla differenza in lunghezza d'onda tra il più alto dei due punti minimi adiacenti e l'intersezione opposta di quel livello minimo più alto e il suo opposto rispetto al picco.<br><br>• **Zoom Picchi**: determina la posizione dei picchi ricalcolandoli e tabulandoli, quando si ingrandisce una regione dello spettro. Se si seleziona **No**, il rilevamento del picco rimane quello determinato prima dell'ingrandimento.<br><br>• **Ordina picchi per...**: determina la sequenza in cui vengono riportati i picchi. Le opzioni sono **Larghezza picco**, **Lunghezza d'onda** e **Altezza picco**. |

<table>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>

• **Indica picchi**: attiva o disattiva la visualizzazione dei cursori dei picchi. I cursori dei picchi si presentano sotto forma di linee tratteggiate verticali che visualizzano l'altezza del picco misurata, e le linee tratteggiate orizzontali mostrano la larghezza del picco.<br><br>
➢ Premere per annullare le selezioni; premere per accettarle.
</td>
</tr>
<tr>
<td>5</td>
<td>Aggiungi picco/Elimina picco</td>
<td>

**Aggiungi picco**: aggiunge manualmente una posizione di picco alla tabella dei picchi nella schermata dei risultati nella posizione stabilita dal cursore. La voce nella tabella dei picchi viene quindi visualizzata con una colorazione inversa per distinguere tra picchi definiti dall'utente e picchi rilevati automaticamente. Se il cursore venisse posizionato su un picco definito dall'utente, nella parte superiore della scansione comparirebbe la dicitura **Picco definito dall'utente**. L'opzione diventa quindi **Elimina picco** per consentire di rimuovere il picco.<br><br>
</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>

**NOTA:** se a questo punto si salva un metodo, vengono salvate queste lunghezze d'onda definite dall'utente, pertanto, ogni volta che si utilizza il metodo i valori di assorbanza vengono riportati a queste lunghezze d'onda.
</td>
</tr>
</table>

| | | |
|---|---|---|
| 6 | Scala grafico | Verrà visualizzata la schermata Scala grafico con le relative impostazioni. Questa schermata consente di impostare un grafico definito stabilendo i limiti nell'asse *x* o *y* o in entrambi.<br><br><br>**Modalità zoom:** questa opzione definisce il funzionamento dei tasti di zoom (tasti freccia su e giù). La modalità **asse *x*** ingrandisce il display attorno all'asse ***x*** del punto del cursore, la modalità **asse *y*** ingrandisce il display attorno all'asse ***y*** del punto del cursore, e la modalità **assi *x* e *y*** espande entrambi gli assi nell'area circostante il punto del cursore. Con i limiti dell'asse *x* o *y* impostati su on, la riduzione è permessa solo all'interno dei limiti stabiliti.<br><br>**Limiti dell'asse *x*/limiti dell'asse *y***: impostando questa opzione su **On**, si attivano i punti di inizio e fine del grafico desiderato su definito dall'utente, lunghezze d'onda specifiche e/o valori di assorbanza.<br><br>➢ Premere per annullare le selezioni; premere per accettarle e visualizzare il grafico desiderato. |
| 7 | Numero campione | Aggiunge un prefisso al numero del campione e ripristina il numero ascendente al valore desiderato. |
| 8 | Salva metodo | Usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una cartella e salvare il metodo in (Preferiti/Metodi 1–9), quindi premere il tasto freccia giù e immettere un nome per il metodo. Premere **Salva** per salvare il metodo. |
| 9 | Stampa automatica | Attiva e disattiva la stampa automatica. |

➢ Per chiudere le opzioni del metodo premere o , o attendere 20 secondi.

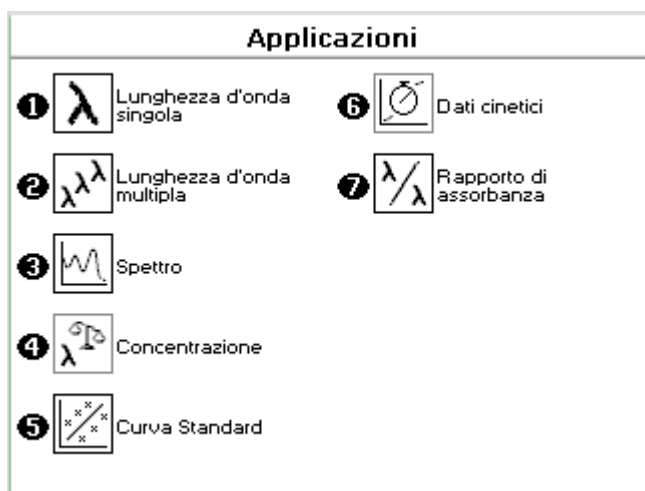
➢ Al termine della misurazione di tutti i campioni premere per ritornare alla cartella Applicazioni.

# *Concentrazione*

**NOTA:** questo metodo è disponibile solo sul Lambda Bio+.

Il metodo Concentrazione consente di eseguire misurazioni della concentrazione, tramite la misurazione della quantità di luce che attraversa un campione in relazione a un riferimento (che può essere l'aria). La concentrazione viene determinata misurando l'assorbanza a una lunghezza d'onda specifica quindi moltiplicando per un fattore. Se si conoscesse il fattore in anticipo lo si potrebbe inserire nel metodo. Se non si conoscesse il fattore, sarebbe possibile misurare uno standard di concentrazione nota e il fattore verrebbe successivamente calcolato dallo strumento.

Eseguire la procedura descritta di seguito.

1. Premere 1 per aprire la cartella Applicazioni.
   Verrà visualizzata la schermata Applicazioni.

2. Premere 4 per aprire il metodo Concentrazione.
   Verrà visualizzata la schermata Concentrazione – Parametri.

3. Immettere la **Lunghezza d'onda** utilizzando i tasti numerici o i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

4. Selezionare la **Modalità** utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

   Le opzioni sono **Fattore** (nei casi in cui si immette un fattore noto), **Standard** (nei casi in cui il fattore viene calcolato in base a un campione di calibrazione), - **Fattore** (nei casi in cui si immette un fattore negativo noto).

5. Se si seleziona **Fattore** o - **Fattore** , immettere il **Fattore** (o - **Fattore** ) utilizzando i tasti numerici, quindi premere il tasto freccia giù.

   L'intervallo disponibile è compreso tra 0,01 e 9999.

   OPPURE

   Se si seleziona **Standard**, immettere la **Concentrazione** utilizzando i tasti numerici, quindi premere il tasto freccia giù.

   L'intervallo disponibile è compreso tra 0,001 e 9999.

6. Immettere le **Unità**, quindi premere il tasto freccia giù.

   È possibile immettere un testo contenente massimo 8 caratteri tramite la tastiera, o premere Opzioni per visualizzare la schermata Unità e accedere a un elenco di unità predefinite.

Nella schermata Unità, usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una delle opzioni disponibili. Le opzioni sono **µg/ml, µg/µl**, **pmol/µl**, **mg/dl**, **mmol/l**, **µmol/l**, **g/l**, **mg/l**, **µg/l**, **U/l**, **%**, **ppm**, **ppb**, **conc** o nessuna.

La schermata Unità consente inoltre di selezionare il numero dei punti decimali (**DP**) visualizzati. Le opzioni sono **Auto**, **0**, **1** e **2**.

**NOTA:** il risultato sarà sempre fissato a 5 cifre significative, indipendentemente dal numero di punti decimali selezionato (quindi 98768,2 è visualizzato come 98768, anche con 1 punto decimale selezionato).

Premere **OK** per salvare le opzioni e ritornare alla schermata Applicazioni.

Le unità possono ancora essere modificate.

7. Premere **OK** per avviare le misurazioni.
   Verrà visualizzata la schermata dei risultati Concentrazione.

8. Inserire il campione di riferimento e premere .
   Questa misurazione di riferimento sarà utilizzata per tutti i campioni successivi finché sarà ripetuta.

9. Selezionando Misura standard, inserire lo standard e premere **OK** .
   Verrà visualizzata la schermata Esegui Standard.

OPPURE

Selezionando Fattore, passare al punto 11.

10. Premere **Esegui** ▶ per eseguire lo standard.
    Il fattore viene calcolato e poi visualizzato.

11. Inserire il primo campione e premere ▶.
    Verrà visualizzata la concentrazione del campione.

12. Ripetere il punto 11 per ciascun campione.

- Premere per visualizzare le opzioni disponibili, che è possibile selezionare tramite i tasti numerici.

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Parametri | Viene visualizzata nuovamente la schermata Parametri. |
| 2 | Stampa | Stampa i risultati tramite il metodo selezionato. |
| 3 | Grafico | Attiva e disattiva la visualizzazione del grafico. L'intervallo di lunghezza d'onda del grafico è ±20 nm rispetto alla lunghezza d'onda selezionata, che è contrassegnata dal cursore. |
| 4 | Esegui Standard | Viene visualizzata nuovamente la schermata Esegui Standard. |
| 7 | Numero campione | Aggiunge un prefisso al numero del campione e ripristina il numero ascendente al valore desiderato. |
| 8 | Salva metodo | Usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una cartella e salvare il metodo in (Preferiti/Metodi 1–9), quindi premere il tasto freccia giù e immettere un nome per il metodo. Premere **Salva** per salvare il metodo. |
| 9 | Stampa automatica | Attiva e disattiva la stampa automatica. |

- Per chiudere le opzioni del metodo premere o , o attendere 20 secondi.

- Al termine della misurazione di tutti i campioni premere per ritornare alla cartella Applicazioni.

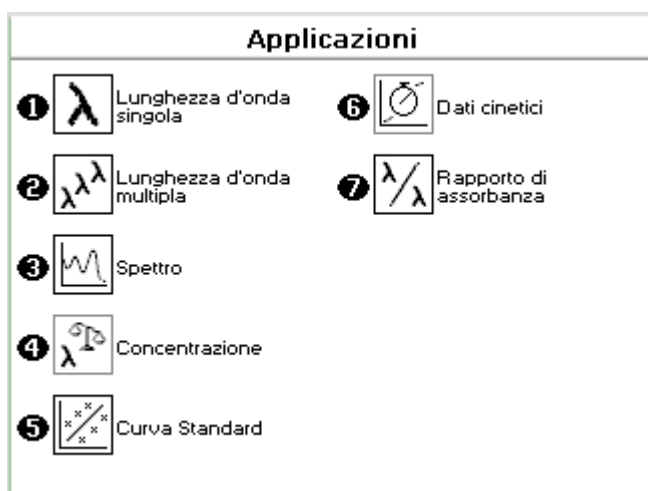
# Curva Standard

**NOTA:** questo metodo è disponibile solo sul Lambda Bio+.

Questo metodo consente la costruzione di una curva di calibrazione a più punti in base a standard di concentrazione nota, che può essere usata per quantificare i campioni noti. Questo strumento ha il vantaggio di poter salvare la curva come metodo, utilizzando fino a un massimo di nove standard.

Se si desiderasse che vi sia uno standard di concentrazione zero, occorrerebbe includerlo nel numero di standard da inserire e immettere 0,00 per la concentrazione; quindi, quando viene richiesto, usare un controllo negativo per includere lo standard zero.

Eseguire la procedura descritta di seguito.

1. Premere 1 per aprire la cartella Applicazioni.
   Verrà visualizzata la schermata Applicazioni.

2. Premere 5 per aprire il metodo Esegui Standard.
   Verrà visualizzata la schermata Esegui Standard – Parametri.

3. Immettere la **Lunghezza d'onda** desiderata utilizzando i tasti numerici o i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

4. Immettere il numero di **Standard**, da usare nella curva degli standard, quindi premere il tasto freccia giù.

   Le opzioni sono 1-9.

5. Immettere le **Unità**, quindi premere il tasto freccia giù.

   È possibile immettere un testo contenente massimo 8 caratteri tramite la tastiera, o premere Opzioni per visualizzare la schermata Unità e accedere a un elenco di unità predefinite.


   Nella schermata Unità, usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una delle opzioni disponibili. Le opzioni sono **µg/ml, µg/µl**, **pmol/µl**, **mg/dl**, **mmol/l**, **µmol/l**, **g/l**, **mg/l**, **µg/l**, **U/l**, **%**, **ppm**, **ppb**, **conc** o nessuna.

   La schermata Unità consente inoltre di selezionare il numero dei punti decimali (**DP**) visualizzati. Le opzioni sono **Auto**, **0**, **1** e **2**.

**NOTA:** il risultato sarà sempre fissato a 5 cifre significative, indipendentemente dal numero di punti decimali selezionato (quindi 98768,2 è visualizzato come 98768, anche con 1 punto decimale selezionato).

   Premere **OK** per salvare le opzioni e ritornare alla schermata Applicazioni.

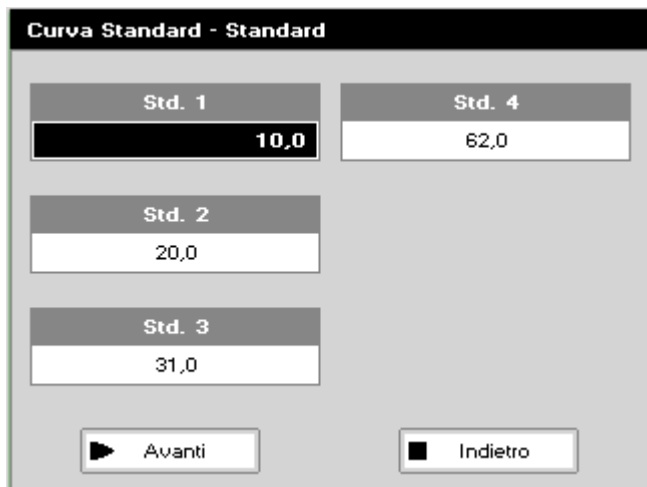
   Le unità possono ancora essere modificate.

6. Selezionare il tipo di **Regressione dati** utilizzando le frecce sinistra e destra, quindi premere la freccia giù.

   Le opzioni sono **Regressione zero** (la retta viene fatta passare dall'origine), **Regressione** (regressione lineare), **Interpolazione** (interpolazione lineare) o **Spline cubica**.

7. Selezionare la modalità **Calibrazione** utilizzando i tasti freccia destra e sinistra.

   Le opzioni sono **Standards** (per misurare gli standard preparati) o **Manuale** (immissione dei valori di assorbanza tramite la tastiera) o **Nuovi standard** (per sostituire eventuali standard già acquisiti).

8. Se si selezionasse **Standards**, premere il tasto freccia giù e immettere il numero di **Repliche**.

   Questo determina il numero di standard da misurare e di cui calcolare la media in corrispondenza di ciascun punto di concentrazione standard.

   Le opzioni sono **Nessuno** (1), **2** o **3**.

| **NOTA:** se si seleziona **Manuale** al punto 7, non si immettono le repliche. |
|---|

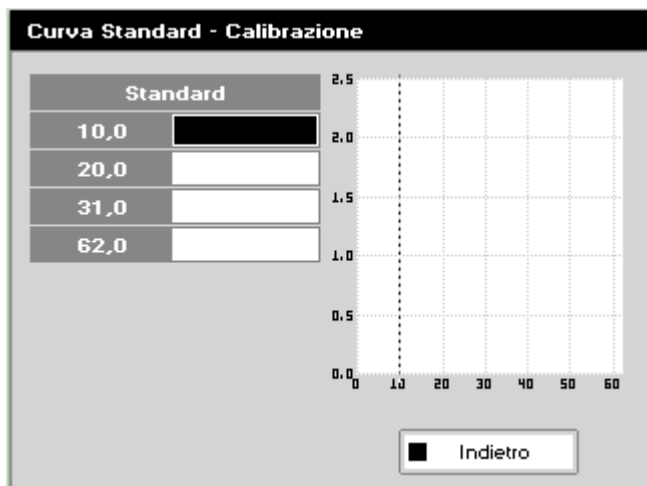
9. Premere **Avanti** .

   Verrà visualizzata la schermata Curva Standard – Standard.

10. Immettere i valori di concentrazione per ciascuno standard utilizzando i tasti numerici e i tasti freccia su e giù per spostarsi tra le caselle dei vari standard.

    L'intervallo disponibile è compreso tra 0,001 e 9999.

11. Premere **Avanti** .

    Verrà visualizzata la schermata Curva Standard – Calibrazione.

| **NOTA:** se nella schermata Standard si effettuasse qualche errore di duplicazione, quando si preme **Avanti** lo strumento emette un segnale acustico ed evidenzia l'immissione errata. |
|---|

12. Se si seleziona **Standards**, inserire il campione di riferimento e premere .

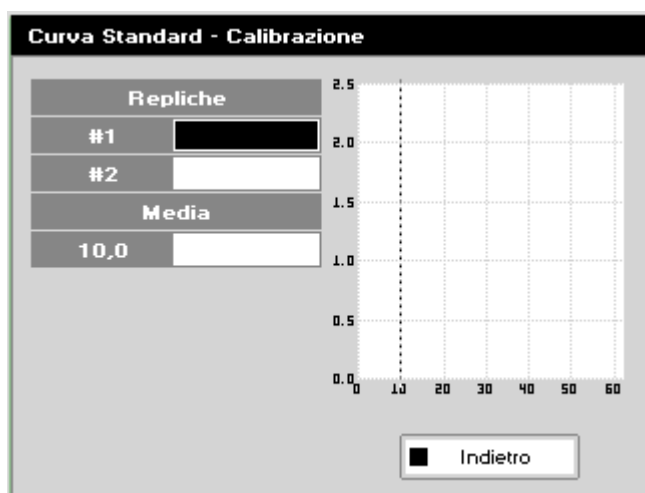
    Questa lettura di riferimento sarà utilizzata per tutti i campioni successivi finché non sarà ripetuta.

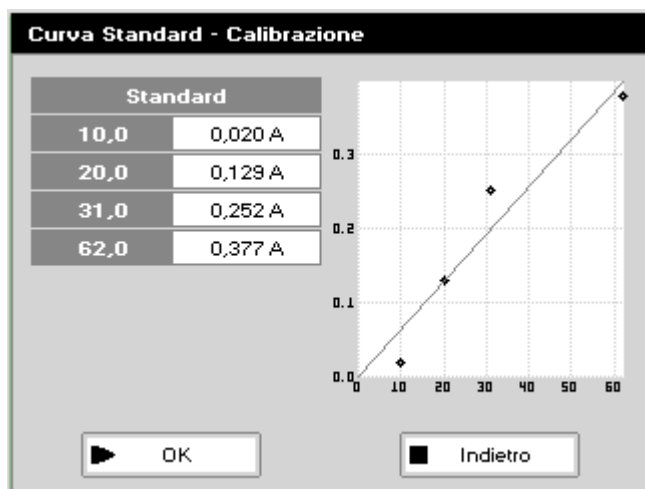
    OPPURE

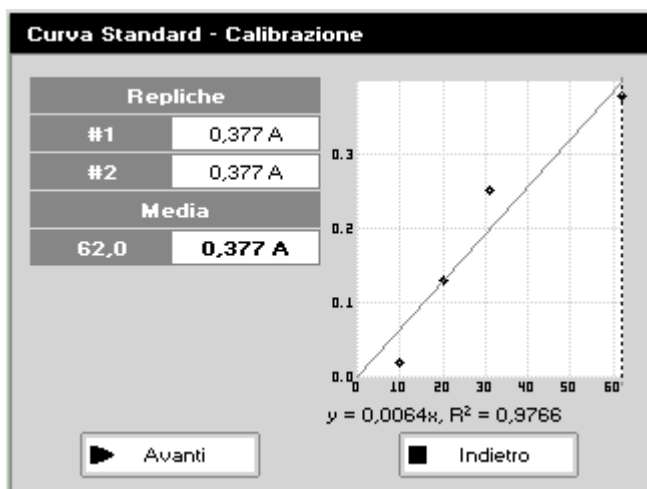
    Se si seleziona **Manuale**, immettere il valore di assorbanza noto per ciascuna concentrazione tramite la tastiera. Passare al punto 15.

    L'intervallo disponibile è compreso tra 0,001 e 9999.

13. Inserire il primo standard e premere .

    Se vi fossero repliche, premere **Repliche** per visualizzarle, quindi premere per misurare ciascuna replica.

14. Ripetere il punto 13 per tutti gli standard.

    Durante le misurazioni, un grafico visualizza i risultati e la regressione dati (ad esempio, regressione zero).

**NOTA:** è possibile utilizzare i tasti freccia su e giù per selezionare uno standard da ripetere se si ottenesse una lettura insoddisfacente. Premere per cancellare la lettura precedente prima della misurazione.

Se si selezionasse Repliche, dopo la misurazione di tutte le repliche premere **Avanti** per ritornare alla schermata Standard.

15. Premere **OK** per accettare la calibrazione.
    Verrà visualizzata la schermata dei risultati Esegui Standard.

16. Se si selezionasse **Manuale**, inserire il campione di riferimento e premere .
    Questa misurazione di riferimento sarà utilizzata per tutti i campioni successivi finché sarà ripetuta.

    OPPURE

    Se si selezionasse Standards, passare al punto 17.

17. Inserire il primo campione e premere .
    Verrà misurata l'assorbanza del campione, quindi ne viene misurata e visualizzata la concentrazione.

18. Ripetere il punto 17 per ciascun campione.

➢ Premere per visualizzare le opzioni disponibili, che è possibile selezionare tramite i tasti numerici.

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Parametri | Viene visualizzata nuovamente la schermata Parametri. |
| 2 | Stampa | Stampa i dati nella schermata dei risultati tramite il metodo selezionato. |
| 3 | Grafico | Attiva e disattiva la visualizzazione del grafico. I cursori visualizzano i valori dell'assorbanza e della corrispondente concentrazione relativi all'ultimo campione misurato. |
| 7 | Numero campione | Aggiunge un prefisso al numero del campione e ripristina il numero ascendente al valore desiderato. |
| 8 | Salva metodo | Usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una cartella e salvare il metodo in (Preferiti/Metodi 1–9), quindi premere il tasto freccia giù e immettere un nome per il metodo. Premere **Salva** per salvare il metodo. |
| 9 | Stampa automatica | Attiva e disattiva la stampa automatica. |

➢ Per chiudere le opzioni del metodo premere o , o attendere 20 secondi.

➢ Al termine della misurazione di tutti i campioni premere per ritornare alla cartella Applicazioni.

# *Dati cinetici*

**NOTA:** questo metodo è disponibile solo sul Lambda Bio+.

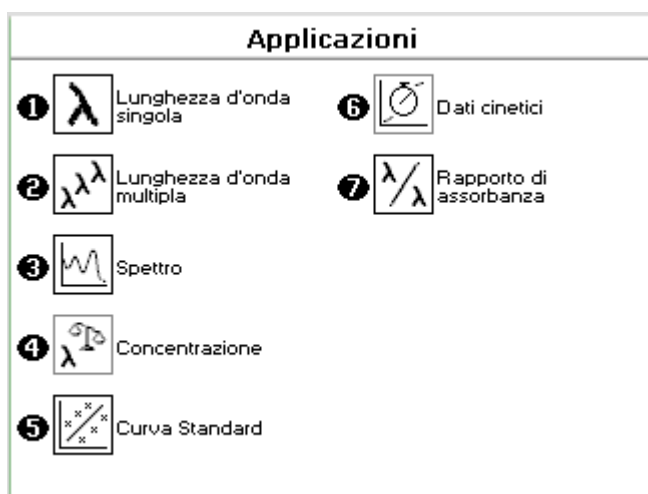
Utilizzando il metodo Dati cinetici è possibile condurre tempestivamente studi cinetici, dove la variazione in assorbanza deve essere seguita in funzione del tempo a una lunghezza d'onda fissa.

I kit di test di reagenti vengono regolarmente utilizzati per la determinazione enzimatica dei composti negli alimenti, nelle bevande e nei laboratori clinici misurando la conversione NAD/NADH a 340 nm. La variazione in assorbanza nell'arco di un intervallo di tempo specificato può essere usata per fornire informazioni utili quando si applica un fattore appropriato definito nel protocollo dei kit di reagenti. Sarebbe possibile calcolare la velocità di reazione e l'attività enzimatica se il fattore usato tebnesse conto della differenza di assorbanza in funzione del tempo, anziché solo della differenza in assorbanza.

Per questa ragione vengono visualizzati la variazione in assorbanza al minuto (ΔA/min), la concentrazione (ΔA/min x fattore) e il coefficiente di correlazione (calcolato in base a una corrispondenza ottimale dei punti di dati), che possono non essere rilevanti per esperimenti cinetici semplici.

Di seguito è descritta la procedura per definire un nuovo metodo.

1. Premere 1 per aprire la cartella Applicazioni.

   Verrà visualizzata la schermata Applicazioni.

2. Premere 6 per aprire il metodo Dati cinetici.

   Verrà visualizzata la schermata Dati cinetici – Parametri 1.

3. Impostare la **Lunghezza d'onda** utilizzando i tasti numerici o i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

   Il valore predefinito è 340 nm.

4. Prima di effettuare le misurazioni immettere il **Ritardo** in secondi, quindi premere il tasto freccia giù.

   È possibile immettere un valore massimo di 600 secondi (10 minuti).

5. Immettere il tempo in minuti nell'arco del quale vengono effettuate le misurazioni (**Durata**), quindi premere il tasto freccia giù.

   È possibile immettere un valore massimo di 60 minuti.

6. Immettere **l'Intervallo** in secondi tra le misurazioni utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

   Le opzioni sono **1**, **2**, **5**, **10**, **15**, **20**, **30** o **60** secondi.

7. Premere **Avanti** .

   Verrà visualizzata la schermata Dati cinetici – Parametri 2.

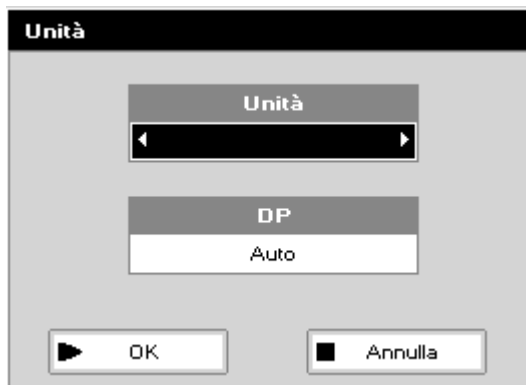
8. Selezionare la **Modalità** di misurazione utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

   Le opzioni sono **Delta A** (la variazione in assorbanza nel corso della durata della misurazione, o nel periodo selezionato), **Finale A** (l'assorbanza al termine della durata della misurazione, o tempo selezionato) e **Pendenza** (la velocità di variazione dell'assorbanza nel corso della durata della misurazione o periodo selezionato).

9. Immettere le **Unità**, quindi premere il tasto freccia giù.

   È possibile immettere una stringa di testo di massimo 8 caratteri. Per accedere a un elenco di unità predefinite nella schermata Unità, premere Opzioni quindi utilizzare i tasti freccia sinistra/destra (le opzioni sono **µg/ml, µg/µl**, **pmol/µl**, **mg/dl**, **mmol/l**, **µmol/l**, **g/l**, **mg/l**, **µg/l**, **U/l**, **%**, **ppm**, **ppb**, **conc** o nessuna). Queste unità possono ancora essere modificate dopo aver selezionato **OK**.

   La schermata Unità consente inoltre di selezionare il numero dei punti decimali (**DP**) visualizzati. Le opzioni sono **Auto**, **0**, **1** e **2**.

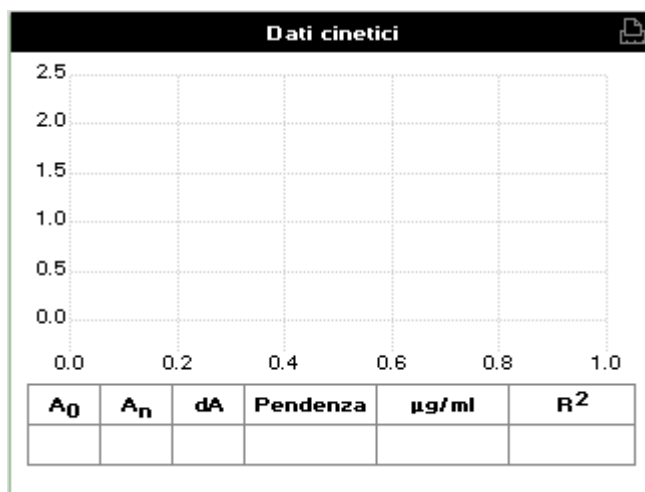
**NOTA:** il risultato sarà sempre fissato a 5 cifre significative, indipendentemente dal numero di punti decimali selezionato (quindi 98768,2 è visualizzato come 98768, anche con 1 punto decimale selezionato).

   Premere **OK** per salvare le opzioni e ritornare alla schermata Applicazioni.

   Le unità possono ancora essere modificate.

10. Utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, impostare il **Fattore** per il quale il risultato viene moltiplicato per generare la quantità nell'intervallo prescelto.

    L'intervallo disponibile è compreso tra 0,01 e 9999.

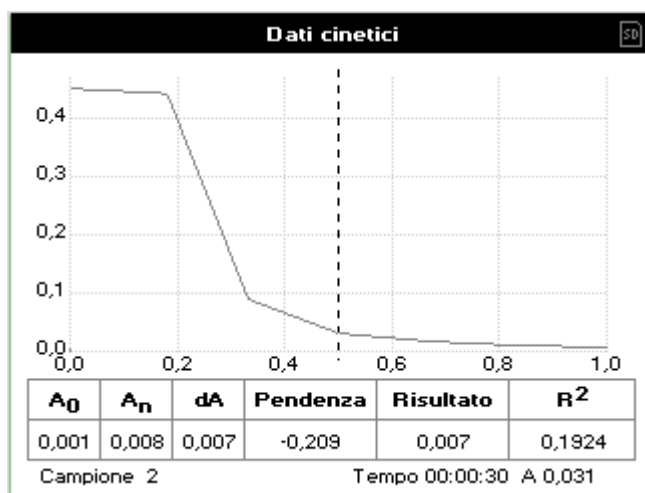
11. Premere **OK** per avviare le letture.

Verrà visualizzata la schermata dei risultati Dati cinetici.

12. Inserire il campione di riferimento e premere .

    Questa misurazione di riferimento sarà utilizzata per tutti i campioni successivi finché non sarà ripetuta.

13. Inserire il primo campione e premere per avviare l'analisi.

    Il tempo di analisi viene visualizzato nella parte inferiore della schermata e i dati di assorbanza vengono tracciati sul grafico con il procedere della misurazione.

    La tabella sotto il grafico visualizza $\mathbf{A_0}$, il valore di assorbanza a $t_0$ (inizio del calcolo); $\mathbf{A_n}$, il valore di assorbanza a $t_n$ (fine del calcolo); **dA**, la variazione in assorbanza; la **Pendenza** e il parametro di regressione ($\mathbf{R^2}$) della pendenza calcolata. La concentrazione viene calcolata con i parametri selezionati nella schermata Parametri 2 (**dA**, **Finale A** o **Pendenza**) – il nome della colonna della tabella dei **Risultati** dipende dalle unità prescelte.

- Utilizzare i tasti freccia sinistra e destra per spostare il cursore e visualizzare il tempo e il valore di assorbanza presso punti di dati misurati.

- Utilizzare i tasti freccia su e giù per ingrandire o ridurre.

- Premere per visualizzare le opzioni disponibili, che è possibile selezionare tramite i tasti numerici.

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Parametri | Viene visualizzata nuovamente la schermata Parametri. |
| 2 | Stampa | Stampa i dati nella schermata dei risultati tramite il metodo selezionato. |
| 3 | Stampa dati | Stampa tutti i dati. |
| 4 | Posizionare il cursore su $t_0$ | Imposta la posizione $t_0$ (il punto d'inizio della pendenza e dei calcoli dA) nella posizione attuale del cursore. Il valore viene memorizzato per i campioni successivi. |
| 5 | Posizionare il cursore su $t_n$ | Imposta la posizione $t_n$ (il punto d'inizio della pendenza e dei calcoli dA) nella posizione attuale del cursore. Il valore viene memorizzato per i campioni successivi. |
| 6 | Pendenza | Attiva e disattiva la visualizzazione della pendenza calcolata. |
| | | **NOTA:** se i punti di dati racchiusi tra $t_0$ e $t_n$ non rientrassero nell'intervallo dello strumento (ovvero >2,5 A o <−0,3 A) questa opzione apparirebbe in grigio (non disponibile). |
| 7 | Numero campione | Aggiunge un prefisso al numero del campione e ripristina il numero ascendente al valore desiderato. |
| 8 | Salva metodo | Usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una cartella e salvare il metodo in (Preferiti/Metodi 1–9), quindi premere il tasto freccia giù e immettere un nome per il metodo. Premere **Salva** per salvare il metodo. |
| 9 | Stampa automatica | Attiva e disattiva la stampa automatica. |

- Per chiudere le opzioni del metodo premere o , o attendere 20 secondi.

- Al termine della misurazione dei campioni premere per ritornare alla cartella Applicazioni.

# *Rapporto di assorbanza*

| **NOTA:** questo metodo è disponibile solo sul Lambda Bio+. |
|---|

Il metodo Rapporto di assorbanza consente di eseguire misurazioni della concentrazione semplici, tramite la misurazione della quantità di luce che attraversa un campione in relazione a un bianco (che può essere l'aria) a due lunghezze d'onda.

Eseguire la procedura descritta di seguito.

1. Premere 1 per aprire la cartella Applicazioni.
   Verrà visualizzata la schermata Applicazioni.

2. Premere 7 per selezionare il metodo Rapporto di assorbanza.
   Verrà visualizzata la schermata Rapporto di assorbanza - Lunghezze d'onda.

3. Immettere la **Lunghezza d'onda 1** utilizzando i tasti numerici o i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

4. Immettere la **Lunghezza d'onda 2** come sopra, quindi premere il tasto freccia giù.

5. Utilizzando i tasti freccia sinistra e destra selezionare se applicare una correzione di **Sfondo** a entrambe le lunghezze d'onda 1 e 2.

6. Se si attivasse la correzione di sfondo impostandola su **On**, immettere la **Lunghezza d'onda 3**, dalla quale ottenere la correzione di fondo.

7. Premere **Avanti** ▶.

   Verrà visualizzata la schermata Rapporto di assorbanza - Parametri.

8. Selezionare il **Cammino ottico** utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

   Le opzioni sono **5 mm** o **10 mm**.

9. Conoscendo il **Fattore di diluizione**, immetterlo utilizzando i tasti numerici, quindi premere il tasto freccia giù e passare al punto 12.

   L'intervallo disponibile è compreso tra 1,00 e 9999.

   OPPURE

   Non conoscendo il fattore di diluizione, premere Opzioni per visualizzare la schermata Fattore di diluizione.

10. Immettere il **Volume** del campione utilizzando i tasti numerici, quindi premere il tasto freccia giù.

    L'intervallo disponibile è compreso tra 0,01 e 9999.

11. Immettere il volume del **Diluente** utilizzando i tasti numerici.

    L'intervallo disponibile è compreso tra 0,01 e 9999.

12. Premere **OK** per calcolare il fattore di diluizione e ritornare alla schermata Parametri.

13. Selezionare le **Unità** di misura utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere la freccia giù.

    Le opzioni sono **µg/ml**, **ng/µl**, **µg/µl**.

14. Immettere il **Fattore** utilizzando i tasti numerici, quindi premere il tasto freccia giù.

    L'intervallo disponibile è compreso tra 0,001 e 9999.

15. Premere **OK** per avviare le misurazioni.

    Verrà visualizzata la schermata Rapporto di assorbanza.

16. Inserire il campione di riferimento e premere 0A 100%T.

    Questa misurazione di riferimento sarà utilizzata per tutti i campioni successivi finché non sarà ripetuta.

17. Inserire il primo campione e premere .

    Verrà misurata l'assorbanza alle lunghezze d'onda selezionate, corretta dal valore della lunghezza d'onda di sfondo, se selezionata, e verrà calcolato il rapporto tra Lunghezza d'onda 1 e Lunghezza d'onda 2.

18. Ripetere il punto 17 per ciascun campione.

➢ Premere per visualizzare le opzioni disponibili, che è possibile selezionare tramite i tasti numerici.

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Parametri | Viene visualizzata nuovamente la schermata Parametri. |
| 2 | Stampa | Stampa tramite il metodo selezionato. |
| 3 | Grafico | Attiva e disattiva la visualizzazione del grafico. Il grafico mostra uno spettro dell'intervallo delle lunghezze d'onda misurate, che sono contrassegnate da cursori. |
| 7 | Numero campione | Aggiunge un prefisso al numero del campione e ripristina il numero ascendente al valore desiderato. |
| 8 | Salva metodo | Usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una cartella e salvare il metodo in (Preferiti/Metodi 1–9), quindi premere il tasto freccia giù e immettere un nome per il metodo. Premere **Salva** per salvare il metodo. |
| 9 | Stampa automatica | Attiva e disattiva la stampa automatica. |

➢ Per chiudere le opzioni del metodo premere o , o attendere 20 secondi.

➢ Al termine della misurazione dei campioni premere per ritornare alla cartella Applicazioni.

# Caratterizzazione del DNA, dell'RNA e degli oligonucleotidi

## Introduzione

Il Lambda Bio/Bio+ include tre metodi per la quantificazione degli acidi nucleici.

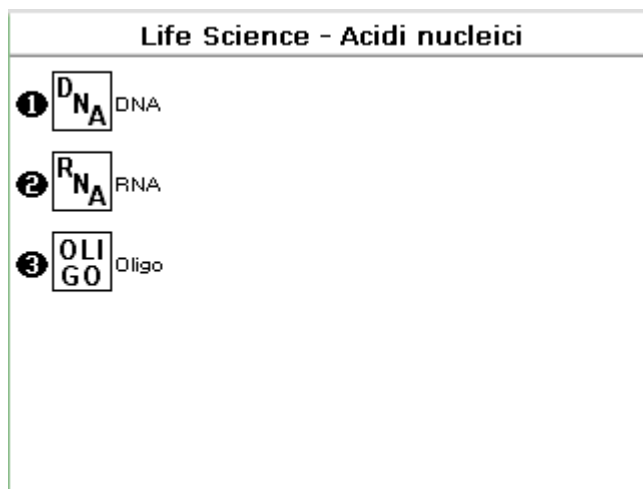



**Figura 11 Schermata Acidi nucleici del Lambda Bio+**

### Quantificazioni degli acidi nucleici

Gli acidi nucleici possono essere quantificati a 260 nm perché è noto che una soluzione di DNA o RNA in una cella con cammino ottico di 10 mm con una densità ottica pari a 1,0 ha una concentrazione rispettivamente di 50 µg/ml o 40 µg/ml. Gli oligonucleotidi hanno un corrispondente fattore di 33 µg/ml, sebbene questo vari con la composizione delle basi; questo può essere calcolato conoscendo la sequenza delle basi:

Concentrazione = A260 $\times$ Fattore

Lo strumento utilizza fattori 50, 40 e 33 come valori predefiniti rispettivamente per DNA, RNA e oligonucleotidi, e compensa la diluizione e l'uso di celle che non hanno un cammino ottico di 10 mm; è possibile immettere il fattore di diluizione e il cammino ottico della cella. Nel metodo Oligo è possibile calcolare il fattore dalle basi composite immettendo le proporzioni delle 4 basi.

### Controlli di purezza degli acidi nucleici

È necessaria una purificazione di ampia portata per separare le impurità delle proteine dagli acidi nucleici estratti dalle cellule. Il rapporto A260/A280 fornisce un'indicazione della purezza. Tuttavia, si tratta solo di un'indicazione e non di una valutazione definitiva. Preparati di DNA ed RNA puri presentano rapporti attesi rispettivamente $\geq$1,8 e $\geq$2,0; eventuali deviazioni da questi valori indicano la presenza di impurità nel campione, ma occorre essere cauti nell'interpretazione dei risultati.

La lettura di 260 nm viene rilevata in prossimità della parte superiore di un picco ampio nello spettro dell'assorbanza per gli acidi nucleici. La lettura di 280 nm viene rilevata su una pendenza accentuata, dove piccole variazioni della lunghezza d'onda causano grandi variazioni dell'assorbanza e, quindi, hanno un maggiore effetto sul rapporto A260/A280 rispetto alle variazioni a 260 nm. Quindi, strumenti diversi, dello stesso tipo o di tipo diverso, possono generare rapporti leggermente diversi a causa delle variazioni nella precisione delle lunghezze d'onda. Tuttavia, si può prevedere che ciascuno strumento generi risultati coerenti al suo interno.

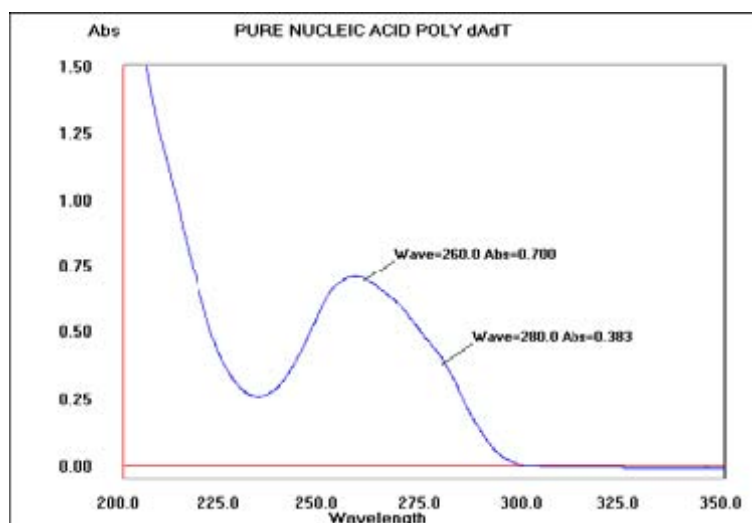



**Figura 12 Scansione spettrale dell'acido nucleico**

Notare i seguenti punti nello spettro:

- assorbanza massima prossima a 260 nm e assorbanza minima prossima a 230 nm;
- picco piatto prossimo a 260 nm e pendenza accentuata a 280 nm;
- assorbanza molto bassa a 320 nm.

Anche la concentrazione della soluzione influisce sulla precisione delle letture A260/A280. Se una soluzione fosse troppo diluita, le letture potrebbero essere al limite di rilevamento strumentale, e i risultati potrebbero variare poiché il picco a 260 nm e la pendenza a 280 nm potrebbero essere meno distinti dall'assorbanza di fondo. Questa è una ragione per cui il valore A260 deve essere maggiore di 0,1 A per misurazioni precise.

Anche un'assorbanza elevata a 230 nm può indicare la presenza di impurità. La lunghezza d'onda di 230 nm è prossima all'assorbanza massima dei legami peptidici. A questa lunghezza d'onda, EDTA e altri sali tampone si assorbono. Quando si misurano campioni di RNA, il rapporto A260/A230 deve essere >2,0; un rapporto inferiore solitamente indica la presenza di contaminazione con guanidina tiocianato, un reagente utilizzato comunemente nella purificazione dell'RNA che assorbe a un intervallo superiore a 230–260 nm. Per i campioni di RNA è particolarmente utile una scansione della lunghezza d'onda.

I metodi dell'acido nucleico visualizzano i rapporti A260/A280 e A260/A230, compensano la diluizione e l'uso di celle che non hanno un cammino ottico di 10 mm; è possibile immettere il fattore di diluizione e il cammino ottico della cella.

### *Uso della correzione di sfondo*

La correzione di sfondo a una lunghezza d'onda completamente separata dai picchi degli acidi nucleici e delle proteine rispettivamente a 260 e 280 nm viene talvolta utilizzata per compensare gli effetti dell'assorbanza di sfondo. La lunghezza d'onda utilizzata è di 320 nm e può tenendo conto degli effetti di torbidità, soluzione tampone ad assorbanza elevata e l'uso di celle ad apertura ridotta. L'uso della correzione di sfondo può anche rimuovere la variabilità dovuta agli effetti dell' uso di celle monouso a basso volume.

I metodi degli acidi nucleici consentono di utilizzare la correzione di sfondo. L'impostazione della correzione di **Sfondo** su **On** produrrà risultati diversi da quelli generati con la correzione su **Off**, poiché l'assorbanza a 320 nm è sottratta dall'assorbanza a 280 e 230 nm, prima che siano calcolati i rapporti della concentrazione o dell'assorbanza:

Concentrazione = ($A$260 – $A$320) × Fattore

Rapporto assorbanza = ($A$260 – $A$320) / ($A$280 – $A$320)

Rapporto assorbanza = ($A$260 – $A$320) / ($A$230 – $A$320)

Se il laboratorio in cui si opera non avesse mai usato prima la correzione di sfondo, impostare questa opzione su **Off**.

## *DNA*

Eseguire la procedura descritta di seguito.

1. Premere 2 per aprire la cartella Scienze biologiche (solo Lambda Bio+).

2. Premere 1 per aprire la cartella Acidi nucleici (solo Lambda Bio+).

3. Premere 1 per aprire il metodo DNA.
   Verrà visualizzata la schermata DNA – Parametri.

4. Selezionare il **Cammino ottico** utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.
   Le opzioni sono **0.5 mm**, **5 mm** o **10 mm** (Lambda Bio), o **5 mm** o **10 mm** (Lambda Bio+).

5. Se si conoscesse il **Fattore di diluizione**, immetterlo utilizzando i tasti numerici, quindi passare al punto 9.

   L'intervallo disponibile è compreso tra 1,00 e 9999.

   OPPURE

   Se non si conoscesse il **Fattore di diluizione**, premere .

   Verrà visualizzata la schermata Fattore di diluizione.

6. Immettere il **Volume** del campione utilizzando i tasti numerici, quindi premere il tasto freccia giù.

   L'intervallo disponibile è compreso tra 0,01 e 9999.

7. Immettere il volume del **Diluente** utilizzando i tasti numerici.

   L'intervallo disponibile è compreso tra 0,01 e 9999.

8. Premere **OK** per calcolare il fattore di diluizione e ritornare alla schermata Parametri.

9. Selezionare **On** o **Off** per la correzione di **Sfondo** a 320 nm utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere la freccia giù.

10. Selezionare le **Unità** di misura utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere la freccia giù.

    Le opzioni sono **µg/ml**, **ng/µl** e **µg/µl**.

11. Immettere il **Fattore** usando i tasti numerici.

    L'intervallo disponibile è compreso tra 0,01 e 9999.

12. Premere **OK** per avviare le misurazioni.
    Verrà visualizzata la schermata dei risultati DNA.

13. Inserire il campione di riferimento e premere .
    Questa misurazione di riferimento sarà utilizzata per tutti i campioni successivi finché sarà ripetuta.

14. Inserire il primo campione e premere .
    Verrà misurata l'assorbanza a 260 nm e 280 nm, corretta dal valore della lunghezza d'onda di sfondo (320 nm), se selezionata, e viene calcolato il rapporto tra i due valori di assorbanza. La concentrazione viene calcolata in base all'assorbanza a 260 nm.

15. Ripetere il punto 14 per ciascun campione.

- Premere per visualizzare le opzioni disponibili, che è possibile selezionare tramite i tasti numerici.

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Parametri | Viene visualizzata nuovamente la schermata Parametri. |
| 2 | Stampa | Stampa tramite il metodo selezionato. |
| 3 | Grafico | Attiva e disattiva la visualizzazione del grafico. Il grafico mostra uno spettro dell'intervallo compreso tra 220 nm e 320 nm con i cursori che indicano 230 nm, 260 nm, 280 nm e (se è selezionata la correzione di sfondo) 320 nm. |
| 7 | Numero campione | Aggiunge un prefisso al numero del campione e ripristina il numero ascendente al valore desiderato. |
| 8 | Salva metodo | Usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una cartella e salvare il metodo in (Preferiti/Metodi 1–9), quindi premere il tasto freccia giù e immettere un nome per il metodo. Premere **Salva** per salvare il metodo. |
| 9 | Stampa automatica | Attiva e disattiva la stampa automatica. |

- Per chiudere le opzioni del metodo premere o , o attendere 20 secondi.
- Premere per ritornare alla cartella Acidi nucleici (solo Lambda Bio+) o alla pagina iniziale (Lambda Bio).

## RNA

Eseguire la procedura descritta di seguito.

1. Premere 2 per aprire la cartella Scienze biologiche (solo Lambda Bio+).
2. Premere 1 per aprire la cartella Acidi nucleici (solo Lambda Bio+).
3. Premere 2 per aprire il metodo RNA.

Verrà visualizzata la schermata RNA – Parametri.

4. Selezionare il **Cammino ottico** utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

   Le opzioni sono **0.5 mm**, **5 mm** o **10 mm** (Lambda Bio), o **5 mm** o **10 mm** (Lambda Bio+).

5. Se si conoscesse il **Fattore di diluizione**, immetterlo utilizzando i tasti numerici, quindi passare al punto 9.

   L'intervallo disponibile è compreso tra 1,00 e 9999.

   OPPURE

   Se non si conoscesse il **Fattore di diluizione**, premere .
   Verrà visualizzata la schermata Fattore di diluizione.

6. Immettere il **Volume** del campione utilizzando i tasti numerici, quindi premere il tasto freccia giù.

   L'intervallo disponibile è compreso tra 0,01 e 9999.

7. Immettere il volume del **Diluente** utilizzando i tasti numerici.

   L'intervallo disponibile è compreso tra 0,01 e 9999.

8. Premere **OK** per calcolare il fattore di diluizione e ritornare alla schermata Parametri.

9. Selezionare se utilizzare o meno la correzione di **Sfondo** a 320 nm utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere la freccia giù.

10. Selezionare le **Unità** di misura utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere la freccia giù.

    Le opzioni sono **µg/ml**, **ng/µl** e **µg/µl**.

11. Immettere il **Fattore** usando i tasti numerici.

    L'intervallo disponibile è compreso tra 0,01 e 9999.

12. Premere **OK** per avviare le misurazioni.

    Verrà visualizzata la schermata dei risultati RNA.

13. Inserire il campione di riferimento e premere 0A/100%T.

    Questa misurazione di riferimento sarà utilizzata per tutti i campioni successivi finché sarà ripetuta.

14. Inserire il primo campione e premere .

    Verrà misurata l'assorbanza a 260 nm e 280 nm, corretta dal valore della lunghezza d'onda di sfondo (320 nm), se selezionata, e viene calcolato il rapporto tra i due valori di assorbanza. La concentrazione viene calcolata in base all'assorbanza a 260 nm.

15. Ripetere il punto 14 per ciascun campione.

➢ Premere per visualizzare le opzioni disponibili, che è possibile selezionare tramite i tasti numerici.

| 1 | Parametri | Viene visualizzata nuovamente la schermata Parametri. |
|---|---|---|
| 2 | Stampa | Stampa tramite il metodo selezionato. |
| 3 | Grafico | Attiva e disattiva la visualizzazione del grafico. Il grafico mostra uno spettro dell'intervallo compreso tra 220 nm e 320 nm con i cursori che indicano 230 nm, 260 nm, 280 nm e (se è selezionata la correzione di sfondo) 320 nm. |
| 7 | Numero campione | Aggiunge un prefisso al numero del campione e ripristina il numero ascendente al valore desiderato. |
| 8 | Salva metodo | Usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una cartella e salvare il metodo in (Preferiti/Metodi 1–9), quindi premere il tasto freccia giù e immettere un nome per il metodo. Premere **Salva** per salvare il metodo. |
| 9 | Stampa automatica | Attiva e disattiva la stampa automatica. |

➢ Per chiudere le opzioni del metodo premere o , o attendere 20 secondi.

➢ Premere per ritornare alla cartella Acidi nucleici (solo Lambda Bio+) o alla pagina iniziale (Lambda Bio).

## *Oligonucleotidi*

Eseguire la procedura descritta di seguito.

1. Premere 5 per aprire la cartella Scienze biologiche (solo Lambda Bio+).
2. Premere 1 per aprire la cartella Acidi nucleici (solo Lambda Bio+).
3. Premere 3 per aprire il metodo Oligo.

Verrà visualizzata la schermata Oligo – Parametri.

4. Selezionare il **Cammino ottico** utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

   Le opzioni sono **0.5 mm**, **5 mm** o **10 mm** (Lambda Bio), o **5 mm** o **10 mm** (Lambda Bio+).

5. Se si conoscesse il **Fattore di diluizione**, immetterlo utilizzando i tasti numerici, quindi passare al punto 9.

   L'intervallo disponibile è compreso tra 1,00 e 9999.

   OPPURE

   Se non si conoscesse il **Fattore di diluizione**, premere .

   Verrà visualizzata la schermata Fattore di diluizione.

6. Immettere il **Volume** del campione utilizzando i tasti numerici, quindi premere il tasto freccia giù.

   L'intervallo disponibile è compreso tra 0,01 e 9999.

7. Immettere il volume del **Diluente** utilizzando i tasti numerici.

   L'intervallo disponibile è compreso tra 0,01 e 9999.

8. Premere **OK** per calcolare il fattore di diluizione e ritornare alla schermata Parametri.

9. Selezionare **On** o **Off** per la correzione di **Sfondo** a 320 nm utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere la freccia giù.

10. Selezionare le **Unità** di misura utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere la freccia giù.

    Le opzioni sono **µg/ml**, **ng/µl**, **µg/µl** e **pmol/µl**.

11. Se le unità fossero µg/ml, ng/µl, µg/µl, immettere il Fattore utilizzando i tasti numerici.

    L'intervallo disponibile è compreso tra 0,01 e 9999.

    OPPURE

    Se le unità fossero pmol/µl, il fattore si trasformerebbe in una tabella di selezione contenente i rapporti delle quattro basi nella struttura. Immettere le proporzioni delle basi **A**, **C**, **G** e **T** presenti utilizzando i tasti numerici e spostarsi tra le caselle con i tasti freccia su e giù.

    L'intervallo disponibile è compreso tra 0 e 9999.

12. Premere **OK** per avviare le misurazioni.

    Verrà visualizzata la schermata dei risultati Oligo.

13. Inserire il campione di riferimento e premere .

    Questa misurazione di riferimento sarà utilizzata per tutti i campioni successivi finché non sarà ripetuta.

14. Inserire il primo campione e premere .

    Verrà misurata l'assorbanza a 260 nm e 280 nm, corretta dal valore della lunghezza d'onda di sfondo (320 nm), se selezionata, e viene calcolato il rapporto tra i due valori di assorbanza. La concentrazione viene calcolata in base all'assorbanza a 260 nm.

15. Ripetere il punto 14 per ciascun campione.

- Premere per visualizzare le opzioni disponibili, che è possibile selezionare tramite i tasti numerici.

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Parametri | Viene visualizzata nuovamente la schermata Parametri. |
| 2 | Stampa | Stampa tramite il metodo selezionato. |
| 3 | Grafico | Attiva e disattiva la visualizzazione del grafico. Il grafico mostra uno spettro dell'intervallo compreso tra 220 nm e 320 nm con i cursori che indicano 230 nm, 260 nm, 280 nm e (se è selezionata la correzione di sfondo) 320 nm. |
| 7 | Numero campione | Aggiunge un prefisso al numero del campione e ripristina il numero ascendente al valore desiderato. |
| 8 | Salva metodo | Usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una cartella e salvare il metodo in (Preferiti/Metodi 1–9), quindi premere il tasto freccia giù e immettere un nome per il metodo. Premere **Salva** per salvare il metodo. |
| 9 | Stampa automatica | Attiva e disattiva la stampa automatica. |

- Per chiudere le opzioni del metodo premere o , o attendere 20 secondi.
- Premere per ritornare alla cartella Acidi nucleici (solo Lambda Bio+) o alla pagina iniziale (Lambda Bio).

# Determinazioni della proteina

Il Lambda Bio/Bio+ include cinque metodi per il dosaggio delle proteine (Figura 13).

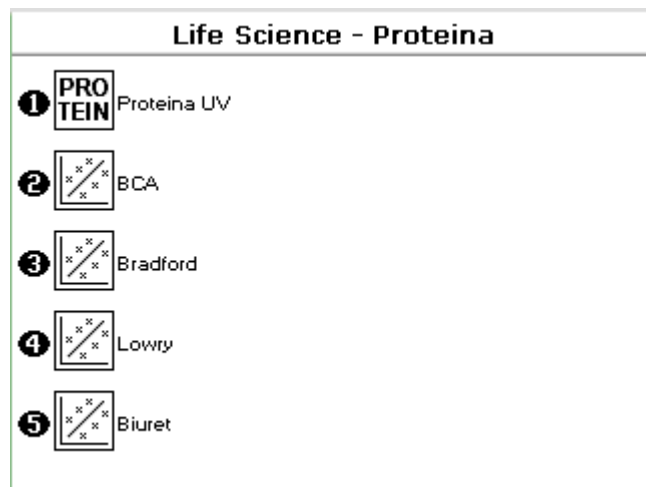



**Figura 13 Schermata dei metodi Proteina**

## Determinazione delle proteine a 280 nm

La concentrazione della proteina può essere determinata nell'UV prossimo a 280 nm in conseguenza dell'assorbanza da parte degli aminoacidi: tirosina, triptofano e fenil-alanina. L'assorbanza a 280 nm varia notevolmente per proteine differenti a causa del loro contenuto di aminoacidi e,pertanto, occorre determinare il valore di assorbanza specifico per una particolare proteina.

La presenza dell'acido nucleico nella soluzione proteica può avere un effetto significativo data la forte assorbanza nucleotidica a 280 nm. Questa può essere compensata misurando l'assorbanza a 260 nm (A260), e applicando l'equazione di Christian e Warburg per la proteina enolasi fungina purificata (*Biochemische Zeitung*, 1941, 310, 384):

$$\text{Proteina (mg/ml)} = 1{,}55 \times A280 - 0{,}76 \times A260$$

Ovvero:

$$\text{Concentrazione proteica} = (\text{Fattore } 1 \times A280) - (\text{Fattore } 2 \times A260)$$

Questa equazione può essere applicata ad altre proteine conoscendo i relativi fattori. Lo strumento determina la concentrazione proteica a 280 nm e utilizza l'equazione sopra come default. I fattori possono essere modificati e l'utilizzo della correzione di sfondo a 320 nm è opzionale.

Per personalizzare l'equazione per una determinata proteina, occorre determinare i valori di assorbanza a 260 e 280 nm a concentrazioni proteiche note per generare equazioni simultanee semplici. La soluzione fornisce i due coefficienti. Nei casi in cui il Fattore 2 risulta negativo, deve essere impostato su zero poiché significa che non vi è contributo alla concentrazione proteica in conseguenza dell'assorbanza a 260 nm.

Impostare Fattore 2 = 0,00 per la misurazione della proteina UV a 280 nm. Il Fattore 1 si basa sul coefficiente di estinzione della proteina. Se l'albumina di siero bovino (BSA) è uno standard accettabile, l'impostazione del Fattore 1 = 1,115 produrrà risultati lineari da una proteina compresa tra 0 e 0,8 mg/ml.

Proteina (mg/ml) = 1,115 × A280

Le misurazioni rapide di questo tipo a 280 nm sono particolarmente utili dopo l'isolamento di proteine e peptidi da miscele usando colonne spin e HiTrap rispettivamente mediante centrifugazione e gravità.

## *Determinazione delle proteine a 595, 546, 562 e 750 nm*

Il metodo di Bradford si basa sulla quantizzazione del legame di un colorante, blu brillante Coomassie, a una proteina sconosciuta e dal confronto di questo legame con quello di concentrazioni note diverse di una proteina standard a 595 nm, solitamente l'albumina di siero bovino (BSA).

Il metodo di Biuret si basa sulla reazione tra ioni cuprici e legami peptidici in una soluzione di alcali, che genera la formazione di un complesso assorbente a 546 nm.

Anche il metodo BCA si basa sulla reazione tra ioni rameici e legami peptidici, ma in aggiunta combina questa reazione con il rilevamento di ioni rameosi in una soluzione di alcali, che genera la formazione di un complesso assorbente a 562 nm. Il processo BCA è meno sensibile alla presenza di detergenti utilizzati per rompere le pareti delle celle.

Il metodo di Lowry si basa sulla quantificazione del colore ottenuto da una reazione del reagente fenolico Folin-Ciocalteu con i residui di tirosina di una proteina sconosciuta e dal confronto con quelli derivati da una curva standard di una proteina standard a 750 nm, solitamente la (BSA).

- Con questi kit di dosaggio sono forniti protocolli dettagliati che devono essere seguiti rigorosamente per garantire risultati accurati.
- Si raccomanda l'uso di celle in plastica monouso. Per usare uno standard di concentrazione zero, includerlo nel numero di standard da inserire e immettere 0,00 per la concentrazione e usarlo quando viene richiesto di immettere lo standard 1.
- Viene eseguita un'analisi di regressione lineare dei punti di dati dello standard di calibrazione e viene stampato il risultato insieme al coefficiente di correlazione. Un coefficiente di correlazione compreso tra 0,95 e 1,00 indica una buona retta.

# *Metodi Proteina*

## *Proteina UV*

Questo metodo si avvale del dosaggio Christian e Warburg.

Eseguire la procedura descritta di seguito.

1. Premere 2 per aprire la cartella Scienze biologiche (solo Lambda Bio+).

2. Se lo strumento fosse un Lambda Bio, premere 6 per aprire la cartella Proteine.

   OPPURE

   Se lo strumento fosse un Lambda Bio+, premere 2 per aprire la cartella Proteine.

3. Premere 1 per aprire il metodo Proteina UV.
   Verrà visualizzata la schermata Proteina UV – Parametri.

4. Selezionare il **Cammino ottico** utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.
   Le opzioni sono **0.5 mm**, **5 mm** o **10 mm** (Lambda Bio), o **5 mm** o **10 mm** (Lambda Bio+).

5. Se si conoscesse il **Fattore di diluizione**, immetterlo utilizzando i tasti numerici, quindi premere il tasto freccia giù e passare al punto 9.
   L'intervallo disponibile è compreso tra 1,00 e 9999.

   OPPURE

   Se non si conoscesse il fattore di diluizione, premere Opzioni per visualizzare la schermata Fattore di diluizione.

6. Immettere il **Volume** del campione utilizzando i tasti numerici, quindi premere il tasto freccia giù.

   L'intervallo disponibile è compreso tra 0,01 e 9999.

7. Immettere il volume del **Diluente** utilizzando i tasti numerici.

   L'intervallo disponibile è compreso tra 0,01 e 9999.

8. Premere **OK** per calcolare il fattore di diluizione e ritornare alla schermata Parametri.

9. Selezionare se utilizzare (**ON**) o meno (**OFF**) la correzione di **Sfondo** a 320 nm utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere la freccia giù.

10. Immettere il **Fattore A260 nm** utilizzando i tasti numerici, quindi premere il tasto freccia giù.

    L'intervallo disponibile è compreso tra 0 e 9999.

11. Immettere il **Fattore A280 nm** utilizzando i tasti numerici, quindi premere il tasto freccia giù.

    L'intervallo disponibile è compreso tra 1,00 e 9999.

12. Selezionare le **Unità** di misura utilizzando i tasti freccia destra e sinistra.

    Le opzioni sono **µg/ml**, **ng/µl** e **µg/µl**.

13. Premere **OK** per avviare le misurazioni.

Verrà visualizzata la schermata dei risultati Proteina UV.

14. Inserire il campione di riferimento e premere .

    Questa misurazione di riferimento sarà utilizzata per tutti i campioni successivi finché non sarà ripetuta.

15. Inserire il primo campione e premere .

    Verrà misurata l'assorbanza a 260 nm e 280 nm, corretta dal valore della lunghezza d'onda di sfondo (320 nm), se selezionata, e viene calcolata la concentrazione della proteina.

16. Ripetere il punto 15 per ciascun campione .

- Premere per visualizzare le opzioni disponibili, che è possibile selezionare tramite i tasti numerici.

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Parametri | Viene visualizzata nuovamente la schermata Parametri (punto 1 sopra). |
| 2 | Stampa | Stampa il risultato tramite il metodo selezionato. |
| 3 | Grafico | Attiva e disattiva la visualizzazione del grafico. Il grafico mostra uno spettro dell'intervallo compreso tra 250 nm e 330 nm con i cursori che indicano 230 nm, 260 nm, 280 nm e (se è selezionata la correzione di sfondo) 320 nm. |
| 7 | Numero campione | Aggiunge un prefisso al numero del campione e ripristina il numero ascendente al valore desiderato. |
| 8 | Salva metodo | Usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una cartella e salvare il metodo in (Preferiti/Metodi 1–9), quindi premere il tasto freccia giù e immettere un nome per il metodo. Premere **Salva** per salvare il metodo. |
| 9 | Stampa automatica | Attiva e disattiva la stampa automatica. |

- Per chiudere le opzioni del metodo premere o , o attendere 20 secondi.

- Al termine di tutte le misurazioni dei campioni premere per ritornare alla cartella Proteina.

## *BCA, Bradford, Lowry e Biuret*

**NOTA:** qui viene descritto solo il metodo BCA. La procedura per i metodi Bradford, Lowry e Biuret è identica, è diversa solo la lunghezza d'onda delle misurazioni. Per ulteriori informazioni vedere *Determinazione delle proteine a 595, 546, 562 e* 750 nm a pagina 87.

Eseguire la procedura descritta di seguito.

1. Premere 2 per aprire la cartella Scienze biologiche (solo Lambda Bio+).
2. Se lo strumento fosse un Lambda Bio, premere 6 per aprire la cartella Proteine.

   OPPURE

   Se lo strumento fosse un Lambda Bio+, premere 2 per aprire la cartella Proteine.
3. Premere 2 per aprire il metodo BCA.
   Verrà visualizzata la schermata BCA – Parametri.

   La **Lunghezza d'onda** per questo metodo è impostata a 562 nm.
4. Immettere il numero di **Standard** (1–9) da usare nella curva utilizzando i tasti numerici o i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

5. Immettere le **Unità**, quindi premere il tasto freccia giù.

   È possibile immettere un testo contenente massimo 8 caratteri tramite la tastiera, o premere Opzioni per visualizzare la schermata Unità e accedere a un elenco di unità predefinite.

   Nella schermata Unità usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una delle opzioni disponibili. Le opzioni sono **µg/ml, µg/µl**, **pmol/µl**, **mg/dl**, **mmol/l**, **µmol/l**, **g/l**, **mg/l**, **µg/l**, **U/l**, **%**, **ppm**, **ppb**, **conc** o nessuna.

   La schermata Unità consente inoltre di selezionare il numero dei punti decimali (**DP**) visualizzati. Le opzioni sono **Auto**, **0**, **1** e **2**.

**NOTA:** il risultato sarà sempre fissato a 5 cifre significative, indipendentemente dal numero di punti decimali selezionato (quindi 98768,2 è visualizzato come 98768, anche con 1 punto decimale selezionato).

   Premere **OK** per salvare le opzioni e ritornare alla schermata Applicazioni.

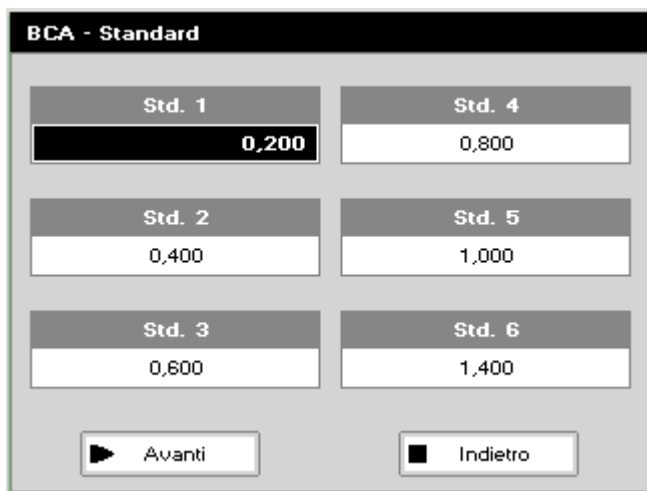
   Le unità possono ancora essere modificate.

6. Selezionare il tipo di **Regressione dati** utilizzando i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

   Le opzioni sono **Regressione** (regressione lineare)**, Regressione zero** (la retta viene fatta passare per l'origine), **Interpolazione** (interpolazione lineare) o **Spline cubica**.

7. Selezionare la modalità di **Calibrazione**.

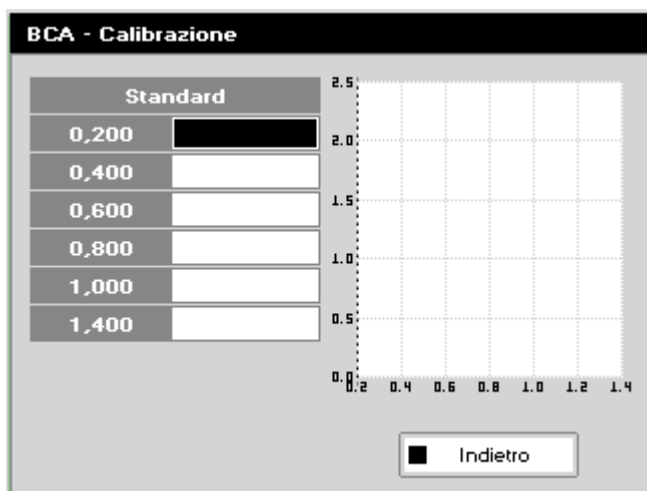
   Le opzioni sono **Standards** (per misurare gli standard preparati) o **Manuale** (immissione dei valori di assorbanza tramite la tastiera) o **Nuovi standard** (per sostituire eventuali standard già acquisiti).

8. Se si selezionasse **Standards**, premere il tasto freccia giù e immettere il numero di **Repliche**.

   Questo determina il numero di standard da misurare e di cui calcolare la media in corrispondenza di ciascun punto di concentrazione standard.

   Le opzioni sono **Nessuno** (1), **2** o **3**.

**NOTA:** se si selezionasse **Manuale** al punto 7, non si potrebbero inserire le repliche.

9. Premere **Avanti** ▶.

   Verrà visualizzata la schermata BCA - Standard.

10. Immettere i valori di concentrazione utilizzando i tasti numerici e i tasti freccia su e giù per spostarsi tra le caselle dei vari standard.

    L'intervallo disponibile è compreso tra 0,001 e 9999.

11. Premere **Avanti** ▶.

    Verrà visualizzata la schermata BCA - Calibrazione.

**NOTA:** se nella schermata Standard si effettuasse qualche errore di duplicazione, premendo **Avanti** lo strumento emetterebbe un segnale acustico ed evidenzierebbe l'immissione errata.

12. Se si seleziona **Standards**, inserire il campione di riferimento e premere .

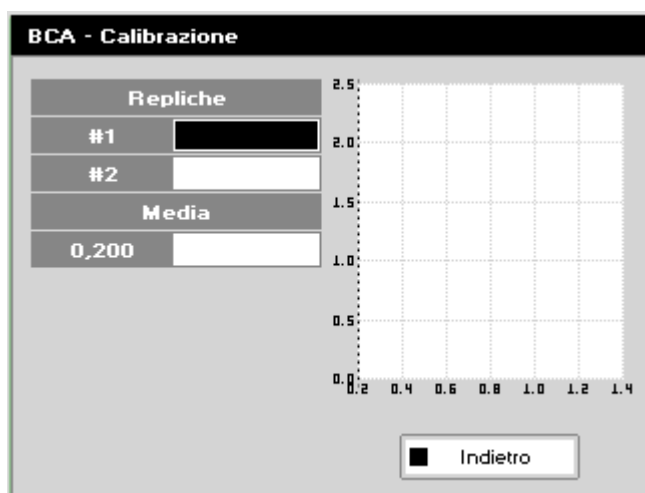
    Questa misurazione di riferimento sarà utilizzata per tutti i campioni successivi finché sarà ripetuta.

    OPPURE

    Se si seleziona **Manuale**, immettere il valore di assorbanza noto per ciascuna concentrazione tramite la tastiera. Passare al punto 15.

    L'intervallo disponibile è compreso tra 0,001 e 9999.

13. Inserire il primo standard e premere .

    Se vi sono repliche, premere **Repliche**  per visualizzarle, quindi premere  per misurare ciascuna replica.

14. Ripetere il punto 13 per tutti gli standard.

    Durante le misurazioni, un grafico visualizza i risultati e la regressione dati (ad esempio, regressione zero).

    Durante le misurazioni, un grafico visualizza i risultati e la regressione dati.

> **NOTA:** sarebbe possibile utilizzare i tasti freccia su e giù per selezionare uno standard da ripetere se si ottenesse una lettura insoddisfacente. Premere C per cancellare la lettura precedente prima della misurazione.

Se si selezionasse Repliche, dopo la misurazione di tutte le repliche premere **Avanti** per ritornare alla schermata Standard.

15. Premere **OK** per accettare la calibrazione.
    Verrà visualizzata la schermata dei risultati BCA.

16. Se si selezionasse **Manuale**, inserire il campione di riferimento e premere 0A/100%T.
    Questa misurazione di riferimento sarà utilizzata per tutti i campioni successivi finché non sarà ripetuta.

    OPPURE

    Se si selezionasse Standards, passare al punto 17.

17. Inserire il primo campione e premere .
Verrà misurata l'assorbanza del campione, quindi ne viene misurata e visualizzata la concentrazione.

18. Ripetere il punto 17 per ciascun campione.

➢ Premere per visualizzare le opzioni disponibili, che è possibile selezionare tramite i tasti numerici.

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Parametri | Viene visualizzata nuovamente la schermata Parametri. |
| 2 | Stampa | Stampa tramite il metodo selezionato. |
| 3 | Grafico | Attiva e disattiva la visualizzazione del grafico. I cursori visualizzano i valori dell'assorbanza e della corrispondente concentrazione relativi all'ultimo campione misurato. |
| 7 | Numero campione | Aggiunge un prefisso al numero del campione e ripristina il numero ascendente al valore desiderato. |
| 8 | Salva metodo | Usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una cartella e salvare il metodo in (Preferiti/Metodi 1–9), quindi premere il tasto freccia giù e immettere un nome per il metodo. Premere **Salva** per salvare il metodo. |
| 9 | Stampa automatica | Attiva e disattiva la stampa automatica. |

➢ Per chiudere le opzioni del metodo premere o , o attendere 20 secondi.

➢ Al termine di tutte le misurazioni dei campioni premere per ritornare alla cartella Proteina.

# *Misurazione dell'assorbanza e della concentrazione*

**NOTA:** questo metodo è disponibile solo sul Lambda Bio.

Il metodo di misurazione Assorbanza/Concentrazione ha due funzioni:

- eseguire misurazioni dell'assorbanza (A) sui campioni, tramite la misurazione della quantità di luce che attraversa un campione in relazione a un riferimento (che può essere l'aria);
- eseguire semplici misurazioni della concentrazione sui campioni, tramite la misurazione della quantità di luce che attraversa un campione in relazione a un riferimento (che può essere l'aria). La concentrazione si ottiene moltiplicando l'assorbanza misurata a una lunghezza d'onda specifica per un fattore. Il fattore può essere noto in anticipo, o può essere calcolato dallo strumento misurando gli standard di concentrazione nota.

Eseguire la procedura descritta di seguito.

1. Premere 4 per selezionare il metodo Assorbanza Concentrazione.

   Verrà visualizzata la schermata Assorbanza Concentrazione – Parametri.

2. Impostare la **Lunghezza d'onda** utilizzando i tasti numerici o i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

3. Selezionare la **Modalità** utilizzando i tasti freccia sinistra e destra.

   Le opzioni sono **Assorbanza**, **Fattore** o **Standard**.

   La modalità Assorbanza misura solo l'assorbanza. La modalità Fattore misura l'assorbanza, quindi calcola la concentrazione utilizzando un fattore noto. La modalità Standard consente di determinare il fattore misurando una soluzione di concentrazione nota, quindi di determinare la concentrazione

4. Se si seleziona **Assorbanza**, passare al punto 7.

   OPPURE

   Se si selezionasse **Fattore**, immettere il fattore utilizzando i tasti numerici. L'intervallo disponibile è compreso tra 0,001 e 9999.

   OPPURE

   Se si selezionasse **Standard**, immettere la concentrazione utilizzando i tasti numerici. L'intervallo disponibile è compreso tra 0,01 e 9999.

5. Immettere le **Unità**, quindi premere il tasto freccia giù.

   È possibile immettere un testo contenente massimo 8 caratteri tramite la tastiera, o premere Opzioni per visualizzare la schermata Unità e accedere a un elenco di unità predefinite.

   Nella schermata Unità, usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una delle opzioni disponibili. Le opzioni sono **µg/ml, µg/µl**, **pmol/µl**, **mg/dl**, **mmol/l**, **µmol/l**, **g/l**, **mg/l**, **µg/l**, **U/l**, **%**, **ppm**, **ppb**, **conc** o nessuna.

   La schermata Unità consente inoltre di selezionare il numero dei punti decimali (**DP**) visualizzati. Le opzioni sono **Auto**, **0**, **1** e **2**.

**NOTA:** il risultato sarà sempre fissato a 5 cifre significative, indipendentemente dal numero di punti decimali selezionato (quindi 98768,2 è visualizzato come 98768, anche con 1 punto decimale selezionato).

Premere **OK** per salvare le opzioni e ritornare alla schermata Assorbanza Concentrazione - Applicazioni.

Le unità possono ancora essere modificate.

6. Premere **OK** per avviare le misurazioni.
   Verrà visualizzata la schermata dei risultati Assorbanza Concentrazione.
   Di seguito è riportata la schermata dei risultati per la modalità Fattore.

7. Inserire il campione di riferimento e premere .
   Questa misurazione di riferimento sarà utilizzata per tutti i campioni successivi finché non sarà ripetuta.

8. Per le misurazioni in modalità Assorbanza e Fattore, inserire il campione e premere , quindi passare al punto 11.

   Verrà visualizzata l'assorbanza o la concentrazione del campione.

   OPPURE

   Per le misurazioni Standard, inserire lo standard e premere .

Verrà visualizzata la schermata Esegui Standard.

9. Premere **Esegui** per eseguire lo standard.
   Il fattore viene calcolato e poi visualizzato.

Assorbanza Concentrazione
Lunghezza d'onda
260 nm
Campione
Standard
Assorbanza
0,066 A
Concentrazione
50,0
Fattore
758
Unità
µg/ml

10. Inserire il primo campione e premere .
    Verrà visualizzata la concentrazione del campione.

11. Ripetere il punto 10 per ciascun campione.

- Premere per visualizzare le opzioni disponibili, che è possibile selezionare tramite i tasti numerici.

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Parametri | Viene visualizzata nuovamente la schermata Parametri. |
| 2 | Stampa | Stampa tramite il metodo selezionato. |
| 4. | Esegui Standard | Viene visualizzata nuovamente la schermata Esegui Standard. |
| 7 | Numero campione | Aggiunge un prefisso al numero del campione e ripristina il numero ascendente al valore desiderato. |
| 8 | Salva metodo | Usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una cartella e salvare il metodo in (Preferiti/Metodi 1–9), quindi premere il tasto freccia giù e immettere un nome per il metodo. Premere **Salva** per salvare il metodo. |
| 9 | Stampa automatica | Attiva e disattiva la stampa automatica. |

- Per chiudere le opzioni del metodo premere o , o attendere 20 secondi.

- Al termine di tutte le misurazioni dei campioni premere per ritornare alla pagina iniziale.

# *Misurazione di colture di cellule batteriche (OD 600)*

Le colture di cellule batteriche vengono normalmente cresciute finché l'assorbanza a 600 nm (nota come OD 600) raggiunge circa 0,4 A prima dell'induzione o della raccolta. Esiste un rapporto lineare tra il numero di celle (o densità) e OD 600 fino a circa 0,6 A.

È importante notare che per campioni torbidi come le colture cellulari, l'assorbanza misurata è dovuta alla diffusione della luce e non è il risultato nell'assorbimento molecolare. La quantità di diffusione è influenzata dall'ottica del sistema (distanza tra il supporto delle celle e l'apertura di uscita dello strumento, la geometria di questa apertura e l'ottica del monocromatore). I diversi tipi di spettrofotometro quindi producono risposte diverse per lo stesso campione torbido. Per confrontare i risultati, questi devono essere normalizzati mediante curve di calibrazione.

Una curva di calibrazione può essere determinata confrontando l'OD 600 misurato con l'OD 600 previsto. L'OD 600 previsto viene determinato contando il numero di cellule con una tecnica alternativa (ad esempio, metodo dei vetrini per microscopi) ed effettuando la conversione in OD 600 tenendo conto della regola generale che 1 OD 600 = $8 \times 10^8$ cellule/ml per E. Coli.

Lo strumento Lambda Bio/Bio+ è dotato di un'ottica molto più piccola rispetto agli spettrofotometri più convenzionali, e una maggiore quantità di luce viene trasmessa attraverso il rivelatore, producendo valori OD 600 inferiori rispetto a quelli previsti. I risultati ottenuti confrontando l'OD 600 misurato con l'OD 600 previsto (vedere sopra) indica che è necessario un fattore di correzione di 2,0 per rendere i dati paragonabili a quelli di strumenti più grandi; questo fattore è incluso come valore predefinito nell'impostazione, ma può essere modificato.

Si raccomanda l'uso di celle monouso con cammino ottico di 10 mm per la misurazione della densità ottica di colture cellulari. Aggiungere glicerolo al campione per evitare la sedimentazione troppo rapida della sospensione con un OD che cambia nel tempo.

Eseguire la procedura descritta di seguito.

1. Premere 2 per aprire la cartella Scienze biologiche (solo Lambda Bio+).
2. Se lo strumento fosse un Lambda Bio, premere 5 per aprire la modalità OD 600.

   OPPURE

   Se lo strumento fosse un Lambda Bio+, premere 3 per selezionare la modalità OD 600.

Verrà visualizzata la schermata OD 600 – Parametri.

3. Impostare la **Lunghezza d'onda** utilizzando i tasti numerici o i tasti freccia sinistra e destra, quindi premere il tasto freccia giù.

   Il valore predefinito è 600 nm.

4. Immettere il fattore di **Correzione** per compensare le diverse configurazioni ottiche tra questo strumento e altri, quindi premere il tasto freccia giù.

5. Selezionare le **Unità**.

   Le opzioni sono **OD** o **cellule/ml**.

6. Se si seleziona **cellule/ml**, immettere il **Fattore** usato (0,000–9999) e il **Moltiplicatore (× 1000 o × 1000.000)**.

7. Premere **OK** per avviare le misurazioni.

   Verrà visualizzata la schermata dei risultati OD 600.

   Di seguito è riportata la schermata dei risultati per le unità **cellule/ml**.

8. Inserire il campione di riferimento e premere 0A 100%T.

   Questa misurazione di riferimento sarà utilizzata per tutti i campioni successivi finché sarà ripetuta.

9. Inserire il primo campione e premere ▶.
   Vengono visualizzati la lunghezza d'onda, l'assorbanza e l'OD 600 o cellule/ml.

10. Ripetere il punto 9 per ciascun campione.

- Premere ☰ per visualizzare le opzioni disponibili, che è possibile selezionare tramite i tasti numerici.

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Parametri | Viene visualizzata nuovamente la schermata Parametri. |
| 2 | Stampa | Stampa tramite il metodo selezionato. |
| 7 | Numero campione | Aggiunge un prefisso al numero del campione e ripristina il numero ascendente al valore desiderato. |
| 8 | Salva metodo | Usare i tasti freccia sinistra e destra per selezionare una cartella e salvare il metodo in (Preferiti/Metodi 1–9), quindi premere il tasto freccia giù e immettere un nome per il metodo. Premere **Salva** ▶ per salvare il metodo. |
| 9 | Stampa automatica | Attiva e disattiva la stampa automatica. |

- Per chiudere le opzioni del metodo premere ☰ o ■, o attendere 20 secondi.

- Al termine di tutte le misurazioni, premere ■ per ritornare alla pagina iniziale.

Accessori

# Accessori e prodotti di consumo

Prodotti di consumo, accessori e pari di ricambio possono essere ordinati direttamente da PerkinElmer. Per ulteriori informazioni visitare il sito di PerkinElmer all'indirizzo http://www.perkinelmer.com.

| Numero parte | Accessori / prodotti di consumo |
|---|---|
| L7110230 | Modulo stampante Lambda Bio/XLS |
| L7110231 | Lambda Bio/XLS Print Utility e cavo di stampa |
| L7110232 | Carta di ricambio per stampante Lambda Bio/XLS (20 rotoli) |
| L7110233 | Accessorio Bluetooth Lambda Bio/XLS |

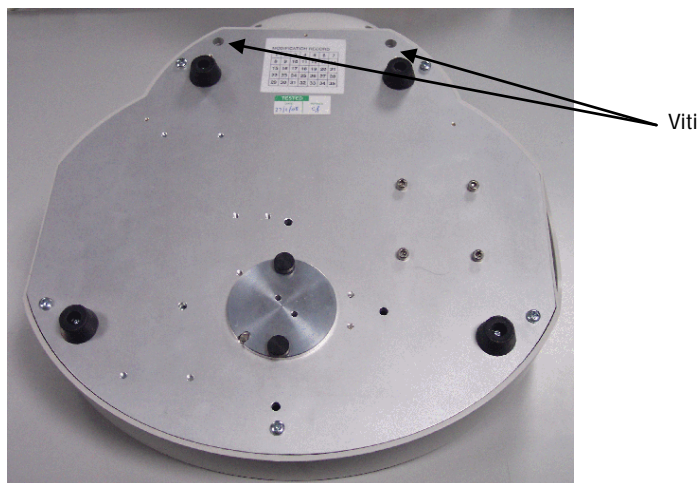
Presso PerkinElmer è inoltre disponibile una gamma di celle e microcelle idonee per l'uso con lo strumento Lambda Bio/Bio+.

# Installazione e configurazione della stampante

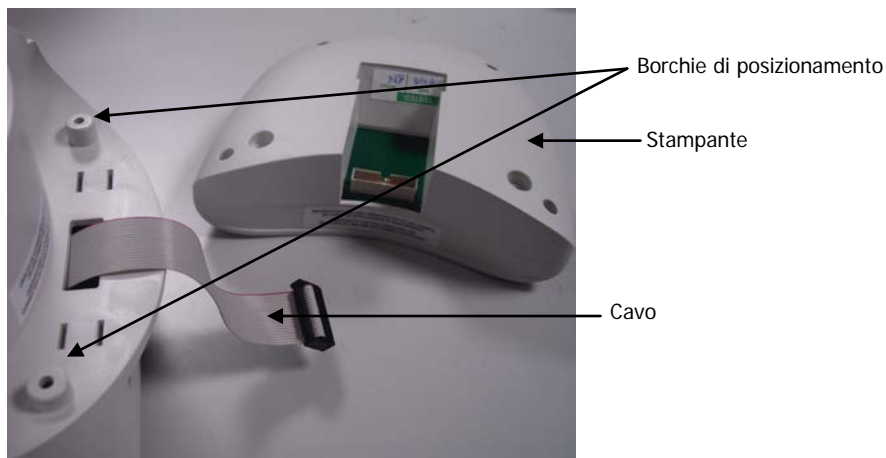
La stampante (L7110230) è un accessorio opzionale che consente di stampare i dati durante l'analisi dei campioni, direttamente dallo strumento.

## Installazione della stampante

1. Spegnere l'alimentazione e scollegare il cavo elettrico.

2. Capovolgere lo strumento ed estrarre le due viti con la chiave esagonale da 3 mm fornita in dotazione.

3. Riportare lo strumento nella posizione normale e sollevare il coperchio degli accessori verticalmente verso l'alto per rimuoverlo. Rimuovere la fascetta che tiene il cavo avvolto.

4. Capovolgere lo strumento e rimontare le viti.

5. Inserire il cavo nella stampante.

6. Abbassare la stampante sulle borchie di posizionamento e spingere con fermezza.

7. Ricollegare il cavo di alimentazione.

## *Configurazione della stampante*

1. Accendere lo strumento e aprire la cartella Utilità.

2. Premere 3 per aprire la cartella Stampante.

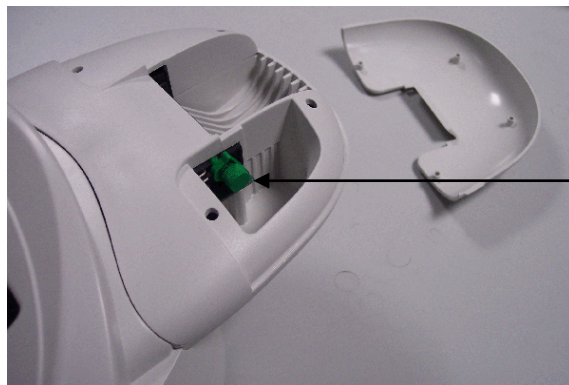
3. Utilizzando i tasti freccia selezionare **Integrato** come opzione per la stampante.

4. Premere **OK** per salvare le impostazioni.

# *Caricamento o sostituzione della carta della stampante*

1. Sollevare il coperchio della carta.

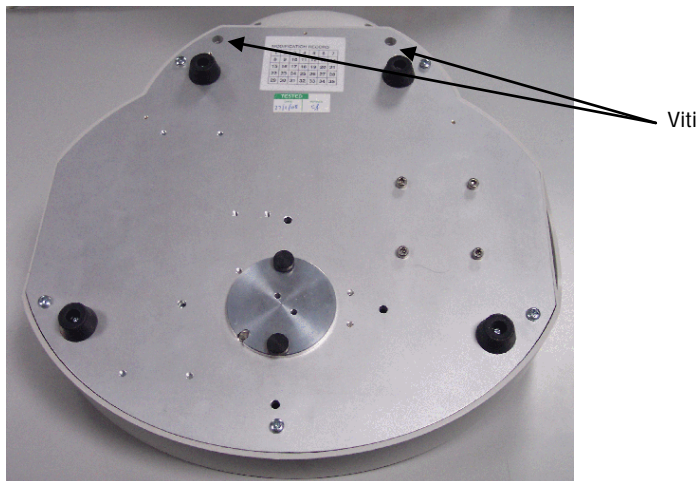
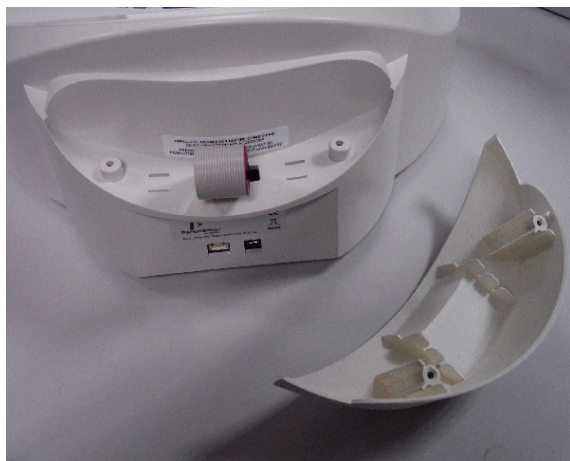
2. Bloccare la piastra e ruotare la manopola per inserire la carta.

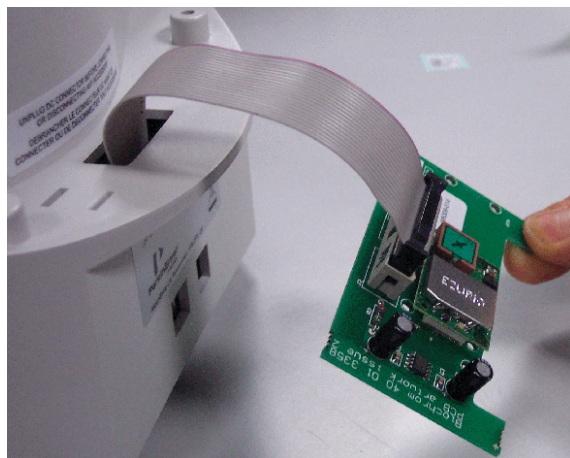
3. Bloccare la piastra e ruotare la manopola per inserire la carta.

4. Inserire la carta.
   Talvolta aiuta se si rilascia il blocco della piastra.

5. Rimontare il coperchio.

# Installazione dell'accessorio Bluetooth

1. Rimuovere il cavo elettrico dallo strumento.

2. Capovolgere lo strumento ed estrarre le due viti con la chiave esagonale da 3 mm fornita in dotazione.

3. Riportare lo strumento nella posizione normale e sollevare il coperchio degli accessori verticalmente verso l'alto per rimuoverlo.

4. Rimuovere la fascetta che tiene il cavo avvolto.

5. Inserire il cavo dell'accessorio nel modulo Bluetooth.

6. Inserire le due alette aggetti sul modulo Bluetooth negli alloggiamenti interni nella base dell'involucro.

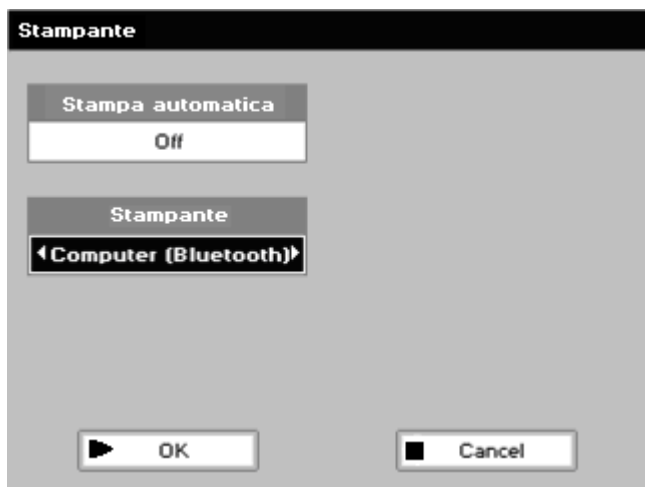
7. Abbassare il coperchio dell'accessorio verticalmente verso il basso sullo strumento, incastrando la scheda dei circuiti stampati negli alloggiamenti interni del coperchio degli accessori.

8. Capovolgere lo strumento e rimontare le viti.

9. Collegare il cavo di alimentazione.

10. Accendere lo strumento e aprire la cartella Utilità.

11. Premere 3 per aprire la cartella Stampante.

12. Utilizzando i tasti freccia selezionare **Computer (Bluetooth)** come opzione per la stampante.

13. Premere **OK** ▶ per salvare le impostazioni.

# *Lambda Bio/XLS Print Utility*

Lambda Bio/XLS Print Utility comprende due applicazioni software.

Lambda Bio/XLS Report Utility è un'applicazione che funziona separatamente sotto Windows XP e che consente il collegamento tra un cavo USB a un PC su cui è installato il software. I dati che si trovano sul PC possono essere stampati direttamente su qualsiasi stampante collegata a quel PC o salvati. Report Utility può salvare i dati i possono essere salvati come file grafici Enhanced Metafile (.emf), file di dati delimitati da virgole (.csv), file di dati delimitati da tabulazioni (.txt) o file Excel, o nel formato dell'utilità di stampa (.pvc) per la visualizzazione con Lambda Bio/XLS Report Viewer.

**NOTA:** è disponibile anche una stampante interna per lo strumento, che viene fornita preinstallata nello strumento o come accessorio opzionale (L7110230).

Se è disponibile questa opzione, per ulteriori informazioni al riguardo consultare il manuale d'uso dell'utilità di stampa del *Lambda Bio/XLS* (*Lambda Bio/XLS Print Utility User's Guide* – L6050015) sul CD dei manuali d'uso del *Lambda Bio/XLS* (*Lambda Bio/XLS User Manuals CD* – L6050018).

# *Manutenzione*

# *Manutenzione generale*

**AVVERTENZA**

***Modifiche e interventi di assistenza non autorizzati***

*Non tentare di riparare o modificare questo strumento o sostituire sue parti. Lo strumento non contiene parti su cui l'utilizzatore può intervenire. In caso di problemi, accedere alla guida alla risoluzione dei problemi sul sito web di PerkinElmer e seguire le istruzioni fornite:*

*http://www.perkinelmer.com/LambdaBioXLSSupport*

*Se non si avesse accesso alla guida alla risoluzione dei problemi o si verificassero ulteriori problemi, rivolgersi all'assistenza clienti (per ulteriori informazioni consultare Appendice 2 - Recapiti dell'assistenza clienti a pagina 123).*

**ATTENZIONE**

*Prima di usare metodi di pulizia o decontaminazione diversi da quelli descritti qui, consultare l'assistenza clienti per verificare che il metodo proposto non danneggi l'apparecchio.*

## *Pulizia dello strumento*

### *Pulizia esterna*

Spegnere lo strumento e scollegare il cavo di alimentazione prima di pulire lo strumento.

Pulire l'esterno dello strumento con un panno umido. Se necessario si può usare un detergente liquido neutro. Fare una prova su una piccola area dello strumento prima di pulire l'intero strumento.

Pulire immediatamente tutti i materiali versati dall'area interessata e asciugarla con carta o con un panno che non sfilaccia.

### *Rimozione della camera delle celle per la pulizia*

La camera delle celle dei campioni può essere rimossa per la pulizia.

1. Allentare le viti sul coperchio del supporto dei campioni sulla base dello strumento ruotandole in senso antiorario.

   Le viti rimangono attaccate alla piastra.

2. Abbassare il supporto dei campioni ed estrarlo dallo strumento.

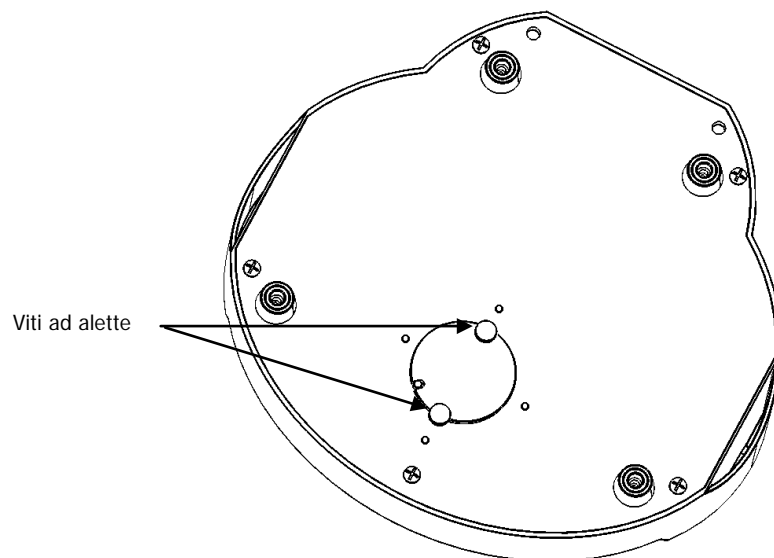



**Figura 14 Posizione delle viti del supporto delle celle**

# *Conservazione e spedizione*

Questa unità deve essere conservata o spedita nella confezione originale che quindi non va eliminata. L'unità deve essere custodita nella sua confezione in un ambiente asciutto, senza condensa ed esente da polvere o sporcizia, a una temperatura compresa tra -10 e 50 °C.

Se occorresse restituire lo strumento a PerkinElmer, sarebbe necessario un certificato di decontaminazione prima di spedire lo strumento. I certificati di decontaminazione possono essere ottenuti da PerkinElmer. La guida alla risoluzione dei problemi, che può essere utile nel processo di reso, è disponibile presso:

http://www.perkinelmer.com/LambdaBioXLSSupport

Se non si avesse accesso alla guida alla risoluzione dei problemi, ci si poterbbe rivolgere anche all'assistenza clienti (per ulteriori informazioni consultare *Appendice 2 - Recapiti* dell'assistenza clienti a pagina 123).

È responsabilità dell'utilizzatore eseguire un'attenta valutazione dei rischi e, se pertinente, adeguate procedure di decontaminazione, prima di restituire lo strumento.

Appendici

# Appendice 1 - Specifiche tecniche

Le specifiche si riferiscono a uno strumento che si sia riscaldato a temperatura ambiente costante e sono tipiche di una unità di produzione. Ci riserviamo il diritto di modificare le specifiche tecniche senza preavviso.

| **Specifica** | **Lambda Bio** | **Lambda Bio+** |
|---|---|---|
| Intervallo delle lunghezze d'onda | 190–1100 nm | |
| Intervallo di scansione delle lunghezze d'onda | 200-950 nm | |
| Monocromatore | Reticolo piatto | |
| Calibrazione della lunghezza d'onda | Automatica all'accensione dello strumento | |
| Larghezza di banda spettrale | 5 nm | 3 nm |
| Precisione della lunghezza d'onda | ±2 nm | |
| Riproducibilità della lunghezza d'onda | ±1 nm | |
| Sorgenti luminose | Lampada allo xenon a impulsi | |
| Rivelatore | CCD a 1024 elementi | |
| Intervallo assorbanza | Da -0,300 a 2,500 A (0 a 199%T) | |
| Linearità fotometrica | ±0,005 A o 1% della lettura, a seconda di quale dei due valori è maggiore a 546 nm | |
| Riproducibilità fotometrica | ±0,003 A (0–0,5 A), ±0.007 A (0,5–1,0 A) | |
| Luce parassita | <1% a 220 nm e 340 nm usando $NaNO_2$ | <0,5% a 220 nm e 340 nm usando $NaNO_2$ |
| Stabilità zero | ±0,01 A/ora dopo un riscaldamento di 20 min a 340 nm | |
| Rumore | 0,005 da picco a picco 0,002 rms | |
| Output digitale | Porta USB standard, opzione Bluetooth | |
| Dimensioni | 340 × 310 × 170 mm (340 × 420 × 170 mm con stampante collegata) | |
| Peso | Circa 4,5 kg | |
| Corrente in ingresso | 100–250 V, 50/60 Hz, Max 30 VA | |

# Appendice 2 - Recapiti dell'assistenza clienti

**NOTA:** se si verificano problemi relativi allo strumento, prima di rivolgersi all'assistenza clienti consultare la guida alla risoluzione dei problemi all'indirizzo http://www.perkinelmer.com/LambdaBioXLSSupport.

| | | |
|---|---|---|
| Assistenza clienti USA: | 1 00 762 4000 | (Negli U.S.A.) |
| | (+1) 203 925 4602 | (Al di fuori degli U.S.A.) |
| Assistenza clienti Europa: | 0800 40 858 | (Belgio) |
| | 0805 111 333 | (Francia) |
| | 0800 0 00 66 79 | (Germania) |
| | 0800 90 66 42 | (Italia) |
| | 800 099 164 | (Spagna) |
| | 0800 896 046 | (UK) |
| Assistenza clienti Brasile: | 11 38 68 6200 | |
| Assistenza clienti Canada: | 800 561 4646 | |
| Assistenza clienti Cina: | 10 5820 8166 | |
| Assistenza clienti India: | 022 6760 1700 | |
| Assistenza clienti Giappone | 45 339 5889 | |
| Assistenza clienti Singapore | 67799 539 | |